



ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

## نکاتی در خصوص ایزوتوپ ها و استخوان های قدیمی

این مقاله مروری، به بررسی تحولات و پیشرفت‌های انجام شده در خصوص کاربرد ابزارهای ایزوتوپ نوری پایدار در زمینه سازگاری‌های دیرین تغذیه شناسی از 1970 میلادی به بعد می‌پردازد. مقاله حاضر با تشریح اصول اصلی حاکم بر توزیع ایزوتوپ‌های نوری پایدار در شبکه‌های غذایی و مسائل کنترل کیفیت مربوط به بافت‌های سنگی شده (تکلیس شده) در این تحلیل‌ها شروع شده و سپس به توصیف مطالعات تاریخی‌ای می‌پردازد که نقش مهمی در پیشرفت‌های ما در زمینه کاربرد دیرین شناسی آن‌ها و یا بهبود درک ما از ابزارها دارد. آن‌ها شامل استفاده از کشت ذرت، رژیم‌های غذایی دریایی در میان شکارچیان- جمع اوری کنندگان ساحلی، سطح غذایی در میان انسان‌های مدرن دوره یخچالی و نئاندرتال‌ها و استفاده از منابع ساوانا (علفزارهای مشجر) توسط هومینین‌های اولیه در آفریقا می‌باشند. توجه ویژه‌ای به پیشرفت‌های انجام شده در مقابله با چالش‌های ناشی از این مطالعات از جمله مسائل مربوط به مسیر یابی عناصر رژیم غذایی معطوف شده است. در نهایت اشاره‌های ضمنی و احتمالی در مورد مسیرها و گرایش‌های این رشته در آینده خواهیم داشت.

کلمات کلیدی: ایزوتوپ‌های سبک پایدار، استخوان‌ها، دندان، کلاژن، آپاتیت، رژیم غذایی، ذرت، موجودات

دریایی

مقدمه

استفاده از تحلیل نسبت ایزوتوپ سبک پایدار در رژیم غذایی انسان‌های گذشته در حال حاضر به یک سطح خاصی از بلوغ رسیده است. بیش از سی سال پیش، نخستین مقالات گزارشی در خصوص کاربرد ایزوتوپ‌های کربن پایدار برای جذب ذرت در میان آمریکایی جنگل نشین ماقبل تاریخ (ووگل و وان در مرو 1977، وان در مرو و ول 1978) ارائه شدند. این مقالات اولیه و برجسته بر اساس یک سری کشفیات مربوط به مسیرهای ایزوتوپ کربن در فتوسنتز گیاهی (برای مثال، اسمیت و اپشتین 1971)، مشاهدات و تجربه‌های جمع اوری شده توسط شیمی دانان رادیو کربن (برگر و همکاران 1964، تآمر و پیرسون 1965، بندر 1968، لانگین 1971، هاسان و ارتنر 1977) و آزمایشات رژیم غذایی کنترل شده (دنیرو و اپشتین 1978) و مشاهدات مربوط به

علفخواران (وگل 1978) بود که اطلاعات اساسی و ضروری را در مورد انتقال ترکیب ایزوتوپ غذایی به بافت‌های حیوانات ارائه کرده‌اند.

یک مزیت منحصر به فرد و متمایز رویکرد فراوانی طبیعی ایزوتوپ پایدار برای مطالعات رژیم غذایی، این است که این رویکرد، منعکس کننده و نشان دهنده غذاهایی است که واقعاً توسط یک فرد، یک گروهی از افراد خورده شده‌اند تا بقایای مربوط به یک دوره نامشخص که تنها بخش بسیار کوچکی از مواد اولیه و اصلی بوده و بقایای آلی با نرخ بقای پایین نظیر غذاهای گیاهی را نادیده می‌گیرد. در امریکای شمالی، نتایج بیشتر غیر منتظره بوده است و این مسئله منجر به بررسی مجدد شواهد باستان شناسی اولیه در خصوص تشکیل جوامع پیچیده و پذیرش و توسعه کشت ذرت شده است. هم چنین این مسئله منجر به بحث‌ها و مناظرات طولانی در خصوص شیوه منعکس شدن و نمایش ذرت در مقادیر ایزوتوپ کلژن شده و بحث‌های گسترده‌تر در خصوص این مسئله هنوز در مطالعات مربوط به رژیم غذایی ایزوتوپ وجود دارند.

چالش‌های اصلی مربوط به مفهوم ترکیب ایزوتوپی بافت‌های انسانی مختلف از حیث اجزای ترکیبات غذایی قابل اندازه گیری می‌باشند- این که آیا یک برآورد کم‌تر یا بیشتر از مقدار واقعی وجود دارد، شیوه رسیدگی به مسائل مربوط به تغییر پذیری، و نیز این که آیا مقادیر ایزوتوپی اندازه گیری شده با گذشت زمان ثابت باقی مانده است یا خیر. ما بایستی بدانیم که چگونه فرایندهای پس از مرگ می‌توانند بر اطلاعات اولیه رژیم غذایی تأثیر بگذارند. این مسائل مطرح شده و علی‌رغم پیشرفت‌های آشکار در این زمینه، تعداد زیادی از چالش‌ها هنوز هم حل نشده باقی مانده‌اند.

به عنوان بخشی از پنجاهمین سالگرد باستان سنجی، از ما خواسته شد تا روند وسیر تاریخی رشته خود را در طی نیم قرن گذشته با توجه ویژه به مقالات چاپ شده در این مجله ترسیم کنیم. چون تحولات و پیشرفت‌های اساسی در زمینه اکولوژی ایزوتوپ سبک پایدار در بسیاری از رشته‌ها رخ داده است، مطالعات اولیه به طور پراکنده در منابع و رشته‌های گسترده‌ای منتشر شده‌اند از جمله ژئوشیمی (رشته اصلی) تا علوم گیاهی و جانوری، باستان شناسی و علوم عمومی. این مجله مطالعات و مقالات زیادی را در زمینه کاربرد تحلیل نسبت ایزوتوپ سبک پایدار بر روی مرمهرهای کلاسیک در مدیترانه منتشر کرده است (هرز 1992)، با این حال مقالات منتشر شده در زمینه استفاده از ایزوتوپ‌ها بر روی رژیم‌های غذایی دیرینه بیشتر مربوط به مسائل حفظ

بافت‌های سنگی می باشد. به طور اخص، در یک شماره ویژه از مجله باستان سنجی در 2002، به جلسه دیاژنز استخوان چهارم تخصیص داده شد. بر اساس اهداف این مقاله مروری، من بر سودمندترین زمینه‌های رژیم غذایی و بررسی میزان پیشرفت در حل برخی مسائل اصلی ناشی از این مطالعات تاکید می‌کنم. همان طور که در بالا اشاره شد، آن‌ها شامل مسائل مربوط به تفسیر کمیت و مقدار (چه میزان)، مسیر یابی عناصر غذایی (میزان معرف بودن) و دیاژنز در بافت‌های مختلف می‌باشند (این که تحلیل‌های استخوان و دندان، اجزای آلی و غیر آلی به چه میزان قابل اطمینان است).

به دلیل گستردگی این رشته، من مقاله مروری خود را تنها به چند مطالعه برجسته از جمله کشت ذرت، رژیم‌های غذایی دریایی در میان شکارچیان- جمع اوری کنندگان ساحلی، سطح غذایی در میان انسان‌های مدرن دوره یخچالی و نئاندرتال‌ها و استفاده از منابع ساوانا (علفزارهای مشجر) توسط هومینین‌های اولیه در آفریقا محدود می‌کنم. در نهایت، من به مسیرهای پیشرفت آینده این رشته از جمله زمینه‌های تاریخچه حیات می‌پردازم. در ابتدا، لازم است تا اصول اصلی ایزوتوپ‌های سبک پایدار در شبکه‌های غذایی و مسائل حفاظت و کنترل کیفیت قبل از بررسی کاربرد ایزوتوپ‌ها در رژیم غذایی انسان، در نظر گرفته شود.

### ایزوتوپ‌های پایدار به عنوان ردیاب‌های رژیم غذایی

#### بافت‌های هدف

این مقاله بر بافت‌های کلسیفید (سنگ شده) تاکید دارد زیرا استخوان‌ها و دندان‌ها به مراتب رایج‌ترین بافت‌های مهره داران می‌باشند که در میان آثار باستان شناسی یافت می‌شوند، اگرچه بافت‌های کراتینه نظیر مو و ناخن گاهی اوقات در شرایط خاص نیز باقی می‌مانند. توزیع ایزوتوپ‌های توصیف شده در زیر در استخوان‌ها و دندان‌ها آرسنیو و تحلیل می‌شوند که بافت‌های مرکب تشکیل شده از مولکول‌های آلی و مواد معدنی می‌باشند. کلاژن، پروتئین اصلی در استخوان و دندان است که یک منبع کربن آلی  $(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})$ ، نیتروژن  $(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})$  و تا حد کمتری، اکسیژن  $(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})$ ، گوگرد  $(^{34}\text{S}/^{32}\text{S})$  و اخیراً هیدروژن  $(\text{D}/\text{H})$  است. این خود متشکل از فیبریل‌های پپتیدی با سیمان‌هایی از مواد معدنی متبلور و ریز می‌باشند. مواد معدنی استخوان و مینای دندان عمدتاً متشکل از آپاتیت‌های فسفات کلسیم بیولوژیکی می‌باشند که از نظر ویژگی‌های شیمیایی و خصوصیات

متفاوت هستند که از آن  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  را می‌توان از فسفات تعیین کرد و  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  و  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  را می‌توان از کربنات جایگزین شده تعیین کرد. مدت زمان مربوط به این بافت‌ها متفاوت است. چون استخوان یک بافت زنده‌ای است که به طور مرتب در طول زندگی فرد تغییر جهت می‌یابد، مقادیر ایزوتوپ نشان دهنده میانگین‌های بلند مدتی است که بستگی به سن فرد دارد. یک مطالعه اخیر بر اساس رادیوکربن نشان داد که میزان تغییرات پس از سن بلوغ کامل به شدت می‌شود (هدجس و همکاران 2007). بر عکس مینای دندان و عاج دندان، بافت‌های اضافی‌ای هستند که در طی دوره کوتاه و بچگی به جز دندان آسیا تشکیل می‌شوند. در نتیجه، مقادیر ایزوتوپ نشان دهنده شرایط در آن زمان می‌باشند، اگرچه تشکیل دندان‌های ثانویه به ندرت رخ می‌دهد و ماهیت آملوژنز و تشکیل مواد معدنی اولیه و بلوغ در مینای دندان به این معنی است که بازه‌های زمانی، گسسته نمی‌باشند (زیر را ببینید).

#### فراوانی طبیعی ایزوتوپ‌های پایدار در شبکه‌های غذایی

ایزوتوپ‌های پایدار یک عنصر اندکی از نظر وزن هسته خود به دلیل تفاوت‌های موجود در تعداد نرون‌ها متفاوت هستند که این مسئله منجر به تفاوت‌های کوچک ولی معنی داری در ویژگی‌های سینتیکی و ترمودینامیکی آن‌ها می‌شود (شارپ 2007). مولکول‌های حاوی ایزوتوپ‌های نادر و با جرم بالا، تمایل دارند تا در پایدارترین جزء سیستم از نظر ترمودینامیکی، برای مثال در فاز مایع به جای فاز گازی تجمع پیدا کنند و یا این که در واکنش‌های سینتیکی حساس به جرم، واکنش کندتری دارند. در حالت تعادل و فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیکی ناقص یا چند سوپه، نتیجه فراکسیناسیون یا جزء به جزء شدن است. اصول حاکم بر جزء به جزء شدن فیزیکی شیمیایی از دیدگاه نظری و تجربی نسبتاً خوب شناخته شده است و از این روی ابزاری را برای پایش مسیرهای عناصر حیات از طریق یک سری پیچیده‌ای از تبدیلات شیمیایی در اختیار می‌گذارند.

بزرگ‌ترین منبع تغییر پذیری ایزوتوپ کربنی در تولید کنندگان اولیه بر روی خشکی و اقیانوس‌ها رخ می‌دهد. در گیاهان خشکی زی، دو مسیر فتوسنتزی غالب، سه کربنه و چهار کربنه (پس از تثبیت تعداد اتم‌های کربن در اولین محصول)، از نظر تمایز در برابر کربن 13 در طی تثبیت دی‌اکسید کربن متفاوت می‌باشند (اسمیت و اپشتین 1971، الری 1981، فراکهر و همکاران 1989). در فتوستز سه کربنه، تمایز قوی در برابر کربن 13 در

طی تثبیت دی اکسید کربن توسط ریبولوز بیفسفات کربوکسیلاز اکسیژناز (روبیسکو) منجر به مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  منفی تری در همه درختان، بوته‌های چوبی، علفی هاو گراس های حاره‌ای و سایه پسند می‌شود. چون گیاهانی که از مسیر C4 یا چهار کربنه استفاده می‌کنند (بسیاری از جگن‌ها و گراس های گرمسیری) دی اکسید کربن را در سلول‌های غلاف آوندی قبل از آزاد شدن به چرخه روبیسکو متمرکز می‌کنند و چون همه این دی اکسید کربن تبدیل می‌شود، فرایند جزء به جزء شدن بیان نمی‌شود. فتوسنتز چهار کربنه یک سازگاری نسبت جدید برای PCO2 پایین تر و تابش خورشید بالا در فصل رشد است (الهی‌نگر و همکاران 1997)، از این روی توزیع گیاهان C4 محدود به محیط‌هایی با این شرایط است. در گیاهان C3،  $\delta^{13}\text{C}$  به شدت از حدود -24 تا -36 درصد بسته به شدت نور، دما، رطوبت، و بازیافت دی اکسید کربن متغیر است (الری 1981، فارکهر و همکاران 1989، وان در مرو و مدینا 1991).  $\delta^{13}\text{C}$  در گیاهان C4 تغییرات کم‌تری دارد (میانگین جهانی -12.5 درصد). غلات سه کربنه مهم از نظر اقتصادی شامل گندم، جو، یولاف و برنج و نیز ریشه‌های سودمند نظیر سیب زمینی، مانیاک و سیب زمینی هندی می‌باشند، در حالی که گیاهان مهم C4 یا چهار کربنه شامل ذرت، سورگوم، ارزان و نیشکر می‌باشند. به طور کلی، تولید کننده‌های اولیه دریایی (فیتوپلانکتون ها، جلبک، دیاتوم ها و رادیولارا) غنی از کربن 13 در مقایسه با اکوسیستم‌های C3 خشکی می‌باشند زیرا منبع کربن، بیکربنات‌های حل شده هستند که دارای  $\delta^{13}\text{C}$  نسبتاً بالا در مقایسه با دی اکسید کربن می‌باشد. مقدار متوسط  $\delta^{13}\text{C}$  حدود -20 درصد است (اسمیت و اشپتین 1971) با این حال مقادیر آن متغیر است.

مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  گیاهان در بافت‌های مصرف کنندگان منعکس می‌شود. در اولین آزمایش تغذیه‌ای کنترل شده، دنیرو و اپشتین (1978) نشان داده‌اند که  $\delta^{13}\text{C}$  کل حیوانات بسیار مشابه با رژیم غذایی آن است (که در آن امکان اندازه گیری کل ارگانسیم یا موجود وجود دارد)، با این حال یک نوع تقسیم بندی در میان بافت‌ها بر طبق شیمی و مسیرهای بیوسنتزی آن‌ها وجود دارد. از این روی تفاوت‌های ایزوتوپی که اغلب به صورت  $\Delta$  (تفاضل) یا  $\epsilon$  (ضریب غنی سازی) بیان می‌شوند بین رژیم غذایی و بافت‌های خاص بیان می‌شوند. تفاوت بین رژیم غذایی و  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن به طور کلی حدود +5 درصد است که اولین بار توسط وان در مرو و ووگل (1978) بر اساس مقادیر آنها برای انساندر بیوم سه کربنه تک ایزوتوپی مشاهده شد. این موضوع توسط بسیاری از مطالعات دیگر بر

روی علفخواران وحشی (سولیوان و کراگر 1981، لیتورپ و همکاران 1989) تأیید شد. دو آزمایش تغذیه‌ای کنترل شده نشان داد که رابطه‌ای بین پروتئین غذایی و کلاژن وجود دارد زیرا آمینو اسیدهای غذایی برای ایجاد بافت کلاژن استفاده می‌شوند (امبروز و نور 1993، تیزن و فاگر 1993) (به بحث زیر مراجعه کنید). یک اثر سطح غذایی کوچک حدود +1 تا 2 درصد در مراحل بعدی در میان گوشت خواران و همه چیز خواران از جمله انسان مشاهده می‌شود.

کربنات استخوان یا دندان در تعادل با بی کربنات خون ساخته می‌شود و ارتباط تنگاتنگی با  $\delta^{13}\text{C}$  دارد: این مقادیر به نوبه خود توسط فرایندهای کاتابولیک و تنفسی کنترل می‌شوند (کرگر و سولیوان 1984، پاسی و همکاران 2005 ب). نقطه تفاضل بین میانگین  $\delta^{13}\text{C}$  کربنات استخوان و غذا حدود +12 درصد است (کرگر و سولیوان 1084، لی تورپ و همکاران 1989). با این حال، این خود بر طبق وزن بدن و فیزیولوژی غذایی متغیر است. مطالعات تغذیه کنترل شده بر روی موش خانگی (دنیرو و اپشتین 1978) و موش صحرایی (امبروز و نور 1993) نشان داده است که میزان تفاضل کم‌تر از 10 درصد است: مشاهدات بر روی بسیاری از علفخواران وحشی حاکی از وجود یک تفاضل 12 درصدی است و تحلیل اسب‌ها یک تفاضل 14 درصدی را نشان داده است (کرلینگ و هریس 1999). اخیراً، نتایج مطالعات غذایی کنترل شده چندین گونه کوچک تا بزرگ نشان داده است که این تفاضل از +11 تا +13.5 درصد متغیر است (پاسی و همکاران 2005 ب). یکی از دلایل احتمالی  $\Delta_{\text{diet-carb}}$ ، انهدام مقادیر متغیری از متان تحلیه شده کربن 13 است (هدجس و وان کلینکن 2000).

برای ایزوتوپ‌های نیتروژن، تغییرات در اکوسیستم منعکس کننده تعادل بین تثبیت نیتروژن بیولوژیک، بازچرخش کمپلکس‌ها درون بیوسفر و آزاد سازی مجدد نیتروژن می‌باشند (رابینسون 2001). نیتروژن اتمسفری از نظر ترکیب ایزوتوپ در مقیاس جهانی یکنواخت بوده و دارای ترکیب  $\delta^{15}\text{N}$  اندکی می‌باشد (بر حسب درصد). بر روی زمین، خاک و گیاهان، میزان  $^{15}\text{N}$  کم‌تری در مقایسه با نیتروژن اتمسفری وجود دارد (دلیویچ و آستین 1970).  $\delta^{15}\text{N}$  خاک و گیاه حدود +1-4 درصد تحت تنوع ناشی از خشکی محیطی، آبشویی (با بارندگی بالا)، کمبود اکسیژن و شوری می‌باشد (شرر و همکاران 1978، هیتون 1987، هندلی و راون 1992). یک قاعده تجربی و سرانگشتی کلی این است که  $\delta^{15}\text{N}$  خاک ارتباط ضعیف و معکوسی با بارندگی دارد

(هندلی و همکاران 1999)، با این حال عملاً، این رابطه وجود دارد، اگرچه متغیر است که در آن بارندگی سالانه متوسط کم‌تر از 400 میلی متر است (هیتون 1987). در اقیانوس‌ها، فراوان‌ترین شکل نیتروژن موجود برای تولید کننده‌های اولیه، نیترات با مقدار میانگین  $\delta^{15}\text{N}$  برابر با حدود 5 تا 6 درصد در مناطق خیزش آب در امتداد حاشیه اقیانوس‌هاست (لئو و گاپلان 1989).

ایزوتوپ‌های نیتروژن بر اساس سطح شبکه غذایی متغیر هستند و تغییرات سطح غذایی گام به گام از 2 تا 6 درصد در  $\delta^{15}\text{N}$  از گیاهان تا علفخواران و از علفخواران تا گوشت خواران به طور گسترده‌ای در شبکه‌های غذایی دریایی و خشکی ثبت شده است (دنیرو و اپشتین 1981، مینگاوا و وائا 1981، سنگینر و دنیرو 1984، سیلی و همکاران 1987). در زنجیره‌های غذایی بلند دریایی، این اثر یک غنی سازی تدریجی در نیتروژن 15 است که منجر به ایجاد مقادیر بالای از  $\delta^{15}\text{N}$  در بیشتر مصرف کننده‌ها و غذاهای دریایی (مینگیوا و وادا 1984) در مقایسه با غذاهای خشکی می‌شود (شونینگر و دنیرو 1984). اکوسیستم‌های آب شیرین مشابه با سیستم‌های آب دریا رفتار می‌کنند به طوری که غذاهای آب شیرین نیز دارای  $\delta^{15}\text{N}$  می‌باشند، اگرچه  $\delta^{13}\text{C}$  از الگوی مشابه با سیستم دریایی پیروی نمی‌کند (دوفور و همکاران 1999). تغییرات غذایی احتمالاً ناشی از از بین رفتن محصولات ترش‌جی عاری از  $\text{N}15$  می‌باشند (برای مثال در بسیاری از حیوانات می‌توان به اوره اشاره کرد، امبروز 1991). با این حال به گفته هدجس و رینارد (2007)، تغییرات رژیم غذایی بافت‌ها در میان گونه‌های با فیزیولوژی‌های مختلف متغیر است و ما نمی‌دانیم که این تغییرات در انسان‌ها چگونه است، ممکن است خطی باشد و یا این که اثرات رژیم‌های غذایی با پروتئین بالا یا پایین به خوبی شناخته نشده است. از دیدگاه منطقی، در صورتی که فرایند غنی سازی  $^{15}\text{N}$  بدن و افت اوره هم چنان ادامه یابد، مقادیر آن در بافت‌های جانوران با افزایش سن به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. با این حال این موضوع مشاهده نشده است و به این ترتیب اثرات ایزوتوپی منجر به غنی سازی بکه غذایی در  $^{15}\text{N}$  می‌شود که در مراحل خاصی از بلوغ دیده می‌شود.

فرایندهای بیوشیمیایی منجر به جزء بندی ایزوتوپ گوگردی حداقل در گیاهان (تراست و فرای 1992) و در سطوح شبکه غذایی بالاتر بر طبق مطالعه تغذیه‌ای کنترل شده می‌شوند (ریچارد و همکاران 2003 ب) از این



روی توزیع آن‌ها به شدت با تغییرات در زمین‌شناسی (میزان  $\delta^{34}\text{S}$  از -22 تا +22 متغیر است) کنترل شده و بر خلاف ترکیب یکنواخت اقیانوس‌هاست ( $\delta^{34}\text{S} = +20\text{‰}$ ). کروز، از ایزوتوپ‌های گوگردی در مطالعه مکان و رژیم غذایی انسان استفاده کرد (کروز و همکاران 1987)، با این حال کاربردهای اولیه با مقدار زیاد کلاژن استخوان مورد نیاز تا زمان ظهور پیشرفت‌ها و تحولاتی در رو شهای جریان پیوسته ایزوتوپ‌های گوگردی محدودتر بوده است. با توجه به ترکیب اقیانوسی یکنواخت، رژیم‌های غذایی دریایی قابل تشخیص است ولی به دلیل اثر پاشیدگی دریا،  $\delta^{34}\text{S}$  دریایی نیز منعکس‌کننده بقایای ساحلی یا حتی جزیره‌ای می‌باشد. از این روی  $\delta^{34}\text{S}$  بایستی همراه با  $\delta^{13}\text{C}$  و  $\delta^{15}\text{N}$  به کار برده شود (ریچاردز و همکاران 2003 ب).

بدیهی است که توزیع جهانی ایزوتوپ‌های هیدروژن و اکسیژن ارتباط تنگاتنگی با رفتار آن‌ها در آب دارد (دانگارد 1964). با این حال در بافت‌های جانوران، تحلیل و تفسیر دو ایزوتوپ به دلیل ماهیت بافت‌ها تفکیک می‌شود. مطالعات  $\delta^{18}\text{O}$  در استخوان مهره داران و مواد معدنی دندان دارای تاریخچه طولانی است و توجه ویژه‌ای به کشف  $\delta^{18}\text{O}$  در فسفات یا کربنات اپاتیت به عنوان یک شاخص دیرین اقلیمی شده است (لونیکلنی 1084، لاز و همکاران 1084، لوز و کلودنی 1985). اکولوژی رژیم غذایی نی ز مهم است زیرا اگسیزن و آب در غذا نقش مهمی در  $\delta^{18}\text{O}$  آب بدن دارند و تا حدودی تحت تأثیر عادات نوشیدن جانور و ترموفیزیولوژی او قرار دارد (لاز و کلودنی 1085، بوکگرن و همکاران 1996، کان 1996، اسپونهمر ولی تارپ 2001). چون ایزوتوپ‌های هیدروژنی سریعاً تبادل می‌شوند، مطالعات بر هیدروژن غیر تبدالی در مولکول‌های آلی تاکید کرده‌اند. این مطالعه در ابتدای مسیر خود قرار دارد و تا حدودی با مشکلات تحلیلی ارتباط دارد. یک مطالعه اخیر نشان داده است که علاوه بر ارائه شاخص‌های شرایط اقلیمی محیط اثرات سطح غذایی نیز مشاهده شده است (رینارد و هدچس 2008). اهمیت این تغییرات برای رژیم غذایی انسان هنوز مطالعه و کشف نشده است.

حفاظت و کنترل کیفیت در صورتی که هدف ما استفاده از ایزوتوپ‌های پایدار به صورت ردیاب‌هایی در استخوان‌ها و دندان‌های فسیلی و نیمه فسیلی می‌باشد، بایستی اطمینان حاصل کرد که مقادیر ایزوتوبی اولیه به طور قابل توجهی پس از مرگ موجود و نیز پس از دفن شدن موجود تغییر نکرده باشد. همه بافت‌های سنگی شده قدیمی می‌توانند اندازه‌گیری شوند و در حقیقت همه استخوان‌ها و دندان‌ها به طور کامل و سریعاً ناپدید

می‌شوند مگر این که یک سری شرایط بهینه وجود داشته باشد. مسیرهای دیاژنز در استخوان، عاج دندان و مینای دندان و در اجزای آلی و غیر آلی این بافت‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای به دلیل تفاوت‌های شیمیایی و ساختاری آن‌ها متغیر است، اگرچه اثرات خارجی اصلی بر میزان رطوبت و اسیدیته، حمله میکروبی، دما و زمان هنوز شناخته نشده است (هیر 1980، کولیتز و همکاران 2002، هدج 2002، لی تورپ 2002، برنا و همکاران 2004). پر واضح است که یک رابطه‌ای نزدیک بین حفظ استخوان و یا فرایندهای تشکیل سایت وجود دارد (وینر و بار یوسف 1990، بل و همکاران 1996، برنا و همکاران 2004، حینز و همکاران 2004). علی‌رغم مسیرهای متفاوت، بقا و تخریب اجزای آلی و غیر آلی اغلب به طور هماهنگ رخ می‌دهد به خصوص برای استخوان که یک ساختار متخلخل بوده و امکان دسترسی به میکروبوها و آب را داده و در آن کلاژن و بیوپاتیت، یک حفاظت متقابل را ارائه می‌کند (هدچس 2002).

### کلاژن

پایداری و تخریب پروتین اصلی در استخوان و دندان، یعنی کلاژن به طور گسترده‌ای به دلیل اهمیت آن در مطالعات ایزوتوپی و نیز رادیوکربن‌ها و راسمیک شدن، بررسی شده است. در مقیاس‌های زمانی زمین‌شناسی، کلاژن در مقایسه با بیوپاتیت فسیل شده عمر کوتاه‌تری دارد، با این حال یک مولکول زیستی بسیار قوی است و به طور مکرر نشان داده شده است که مقادیر قابل اندازه‌گیری کلاژن می‌تواند تحت شرایط بهینه به مدت بیش از 100000 سال باقی بماند (جونز و همکاران 2001). کلاژن زمانی دنا‌توره می‌شود که پیوندهای هیدروژنی شکسته شود و سپس فیبریل‌ها فوراً انحلال یابند و این نشان دهنده حساسیت کلاژن به رطوبت، دما و شرایط PH است. کولینز و همکاران (2002)، به بررسی تجزیه کلاژن و سایر مولکول‌های زیستی در یک شماره ویژه از مجله باستان‌سنجی پرداختند. پروتین‌های غیر کلاژنی به خصوص استئوکلسین، نیز در استخوان‌های باستانی باقی می‌مانند با این حال نرخ بقای آن‌ها ضعیف‌تر از نرخ بقای کلاژن است (اسمیت و همکاران 2005).

به نظر می‌رسد که حتی زمانی که نسبت بالایی از مولکول‌های کلاژن اولیه ناپدید شوند، ترکیب ایزوتوپی دست‌نخورده باقی می‌ماند. روش‌های تخلیص یکنواخت امروزه استفاده می‌شوند که همه این روش‌ها، روش‌های اصلاح شده لاتگین (1971) می‌اشند. نمونه‌های پودر شده دندان یا استخوان در HCL رقیق (زدودن نمک و املاح)، در دمای پایین 5 درجه سانتی‌گراد (ریچارد و هدجس 1999 الف، جونز و همکاران 2001) کانی زدایی شده و

سپس تحت مراحل ژله‌ای شدن، فیلتراسیون و انجماد خشک قرار می‌گیرد و سپس این مقادیر اشتعال یافته و دی اکسید کربن و نیتروژن وارد یک طیف سنج جرمی قرار می‌گیرند. انحراف معیار اندازه گیری‌های دارای تکرار حدود  $\pm 0.1\%$  برای کربن و  $\pm 0.2\%$  برای نیتروژن است. کلاژن تجزیه شده یا آلودگی هوموس تولید نسبت‌های ایزوتوپی پایدار تغییر یافته می‌باشند با این حال، پروتوکل‌های استاندارد، امکان کنترل کیفیت رضایت بخش و ساده را برای کلاژن می‌دهد. محاسبه نسبت‌های مولی C:N و تولید کلاژن و درصد وزنی C-N (امروز 1990) توسط انجمن ایزوتوپ‌های پایدار انجام می‌شود. شاخص C:N بسیار قوی است. یکپارچگی ایزوتوپی کلاژن، حتی در مواردی که میزان بقا پایین است مبهم است تا زمانی که نشان داده شود توالی پروتین و اطلاعات ایزوتوپی پایدار ثابت باقی مانده است و یا تا زمانی که استانه دناتوره شدن فبریل‌ها حاصل شود (کوون 2007).

#### بیوپاتیت‌ها

اگرچه کانی‌ها و مواد معدنی در استخوان و مینای دندان، آپاتیت‌های بیولوژیک می‌باشند، با این حال آن‌ها از نظیر شیوه منعکس کردن کارکرد خود متفاوت هستند و در عین حال قویاً بر مسیرهای دیاژنز اثر می‌گذارند. آپاتیت استخوان به شدت با مقدار پایین تبلور جایگزین می‌شوند (دریسن و همکاران 1978، لگروس 1991). از سوی دیگر آپاتیت دندان، دارای جایگزین کم‌تری (3 درصد کلسیم کربنات)، تبلور و تراکم بالا (لگروس 1991) و ساختارهای منشوری با درجه بالا (بوید 1967) می‌اشند. ماتریس عالی دندان بالغ متشکل از مقادیر بسیار کم فسفو پروتین و آملوژنین می‌باشد، در حالی که نسبت کلاژن در استخوان و دندان (20-30 درصد) بالاست. روند تغییرات برای بیوپاتیت پس از مرگ موجود زنده (که در آن شرایط برای بقا مناسب است)، به سمت پایداری بر اساس فرایندهای تبلور مجدد و رشد بلور می‌رود (استوالد رایپنینگ). در استخوان، شاخص‌های تبلور نظیر انکسار اشعه ایکس و مادون قرمز تبدیل فوریه افزایش سریع پس از مرگ را حتی در نبود پروموتورهای محیطی نشان می‌دهند (ترومن و همکاران 2004)، با این حال تغییرات در مینای دندان حتی پس از دوره‌های طولانی، حداقل است (لی تورپ و وان در مرو 1987، الیف و همکاران 1994). تبلور مجدد می‌تواند موجب وارد شدن یون‌های خارجی به ساختارهای بلورین شود با این حال بدیهی است که ترکیب ایزوتوپ اولیه تغییر می‌یابد. در رابطه با حملات میکروبی کاتالیز شده انزیمی (بلک و همکاران 1997، شارپ و همکاران 2000) همراه با تبلور مجدد،

تغییرا معنی دار در  $\delta^{18}\text{O}$  در بیفسفات استخوان مشاهده شد علی رغم این که قدرت پیوند P-O موجب ایجاد یک پاسخ ایمنی به دیاژنز می شود (لوز و کلندی 1985). دندان ایمن نیست، شونینگر و همکاران (2003) نشان داده است که تبلور مجدد به فلوراپاتیت می تواند بر ترکیب ایزوتوپی فسیل ها از منطق دریچه تورکانای غنی از توف های آتش نشانی اثر بگذارد. در مقیاس های زمانی بلند مدت، فرایندهای انتشار و تبادل ایزوتوپی و یونی در هر دو بافت تداوم می یابند و رسوب مواد خارجی در ترک ها و شیارها شامل پیریت، سیلیکات ها و کربنات های ساده است (حسن و ارتنر 1977).

نتیجه این ویژگی ها و مشاهدات این است که آپاتیت استخوان به انواع دیاژنز ها آسیب پذیر است که بر ترکیب ایزوتوپ اثر می گذارد، این در حالی است که عاج دندان نسبتاً ایمن است. با این وجود، دندان و استخوان متفاوت هستند زیرا استخوان چشم انداز ها و دیدگاه گسترده تری از مینای دندان در اختیار می گذارد. گفته می شود که آپاتیت استخوان نیمه فسیلی می تواند اطلاعات ارزشمندی در بسیاری از موارد ارائه کند (لی تورپ و اسپنهیمر 2003) از این روی نمی توان این فرصت ها را نادیده بگیریم.

در خصوص پروتوکل های تشخیص تغییرات معنی دار در آپاتیت برای حذف الاینده ها و برای تثبیت کنترل کیفیت به غیر از کلاژن، اجماع اندکی وجود دارد. این به دلیل وجود عدم قطعیت در مورد مسیرها و اثرات دیاژنز بر روی ترکیب ایزوتوپی و شیوه اندازه گیری آن هاست و چون پروتوکل های پیش تیمار طراحی شده برای حذف الاینده ها نیز با برخی ابهامات همراه هستند. مشاهده شده است که بسیاری از شاخص های استاندارد دیاژنز با یک دیگر همبستگی ندارند (هدجس 2002) و به علاوه، آن ها اطلاعات کمی در مورد تغییرات ایزوتوپی ارائه می کند (ترومن و همکاران 2008). برای مثال، تمایزات مورد انتظار  $\delta^{18}\text{O}$  بین گروه های انسانی در مناطقی از مکزیک مشاهده شده است، اگرچه میزان تبلور نیز تغییرات مبرهنی را نشان داد (استورات ویلیامز و همکاران 1996).

بر خلاف کلاژن، تست اطمینان پذیری ترکیب ایزوتوپی آپاتیت مستلزم تست هایی است که به تغییرات ایزوتوپ طبیعی وابسته است. یک رویکرد، ف تثبیت مقیاس  $\delta^{13}\text{C}$  تفضیلی از حیواناتی است که تغذیه کننده های گیاهان سه و چهار کربنه می باشند (لی تورپ و وان در مرو 1987). این شیوه عملکرد مطلوبی دارد با این حال محدودیت هایی نیز دارد- به طوری که در مناطق با گیاهان سه و چهار کربنه مجزا بایستی استفاده شود و یا

مشکلاتی در تخصیص رژیم غذایی مناسب برای جانورانی که منقرض شده‌اند وجود دارد. با این وجود، در جایی که این روش استفاده می‌شود، نتایج مطلوبی در خصوص  $\delta^{13}\text{C}$  دندان نشان داده شده است (کرلینگ و همکاران 1997). در انجام این مقایسات حال و آینده، ما بایستی این موضوع را در نظر بگیریم که  $\delta^{13}\text{C}$  دی اکسید کربن اتمسفری، که گیاهان به آن وابسته هستند، از حدود -6.5 درصد در عصر ماقبل صنعتیتا -8 درصد امروزه به دلیل اشتعال سوخت‌های فسیلی تغییر کرده است (فریدلی و همکاران 1986). در عین حال، اثر فسیل بر روی مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  اقیانوسی قابل اندازه‌گیری نمی‌باشد و این تفاوت می‌تواند موجب پیچیده‌تر شدن رژیم غذایی دریایی در برابر رژیم غذایی غیر دریایی انسان شود.

ارزیابی پایایی و اطمینان پذیری مقادیر  $\delta^{18}\text{O}$  به دلیل تغییرات ذاتی در سیستم مطلوب است. یک رویکرد بستگی به تغییرات قابل پیش‌بینی در اجتماعات گیاهی دارد (بارنز و همکاران 1996، اسپنهمیر و لی تورپ 2001). برای مثال،  $\delta^{18}\text{O}$  کرگدن کم‌تر از سایر حیوانات در اجتماعات گیاهی افریقا است (باکرنز و همکاران 1996). یک آزمایش اثبات کرده است که  $\delta^{18}\text{O}$  بین سالانه پیش‌بینی شده برای تحلیل تاج دندان بر اساس رویکرد بالاس (2003) به کار می‌رود. هم‌چنین مقایسه  $\delta^{18}\text{O}$  از یون‌های کربنات و فسفات صورت گرفته است زیرا تفاضل ایزوتوپی مشخص است (بیرانت و همکاران 1996، ایکومن و همکاران 1996)، اگرچه تنوع درون و بین گونه‌ای وجود دارد (مارتین و همکاران 2008).

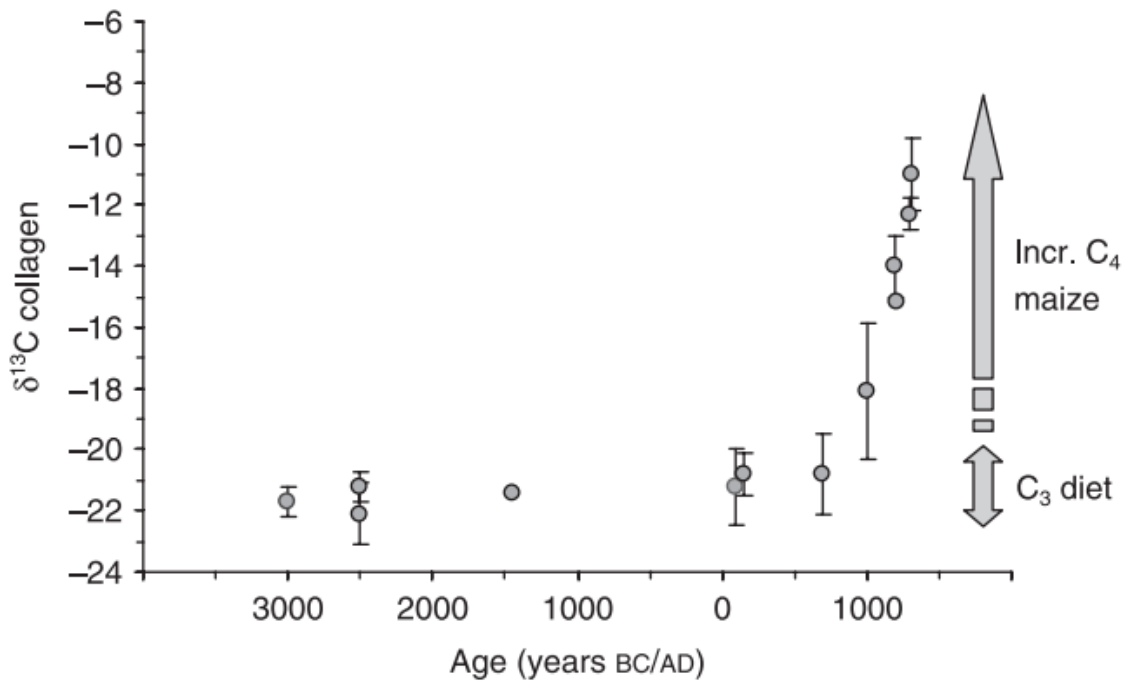
بیشتر روش‌های تخلیص استاندارد، در ابتدا جزء آلی نمونه پودر شده را از طریق NaOCl یا H2O2 حذف کرده و سپس اِتچینگ در محلول اسید استیک بافر ضعیف قرار می‌گیرد. دلیل این است که اسید ابتدا به فاز واکنشی حمله می‌کند که شامل الاینده‌های کربناتی ساده و اپاتیت محلول بیوژنیک یا دیاژنیک می‌باشد. پروتوکل اسید استیک رقیق تولید شده توسط هارولد کرگر با اصلاحات استفاده شده است (سولیوان و کرگر 1981، لی تورپ و وان در مرو 1987، کرگر 1991، کاچ و همکاران 1997). هر دو مرحله در پروتوکل می‌توانند ایجاد مصنوعات شیمیایی و ایزوتوپی کنند. از این روی مدت زمان واکنش‌ها بایستی محدود باشد به خصوص در جایی که مواد واکنشی است. برای مثال، حفاری تولید ذرات بسیار کوچکی می‌کنند که بسیار واکنشی هستند و غوطه‌وری بلند مدت می‌تواند موجب تحریک تبلور مجدد شود. آزمایشگاه ما امروزه از این پروتوکل‌ها

برای دوره‌های بسیار محدود (به ترتیب 30 و 5-10 دقیقه) برای اجتناب از انحلال و تبلور مجدد استفاده می‌کند. لازم به ذکر است که این پروتوکل‌های اسید ضعیف دارای محدودیت‌هایی است که در آن‌ها ماده به فلوراپاتیت‌های پایدار تبدیل می‌شوند. در این صورت، مواد تغییر یافته که ممکن است در چندین قطعه یا لکه وجود داشته باشند، نبایستی استفاده شوند.

### کشت ذرت

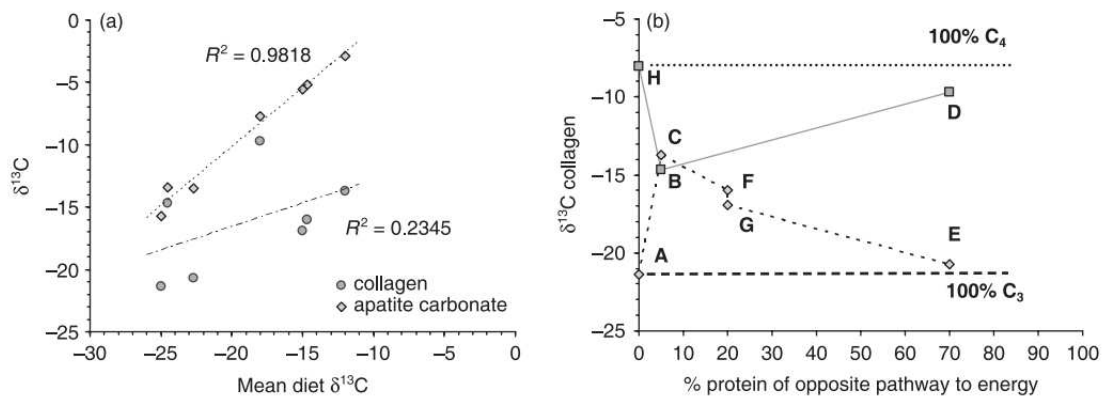
اولین کاربرد  $\delta^{13}\text{C}$  در کلاژن استخوان انسان از مکان‌هایی در آمریکای شمالی به طور دقیق برای نشان دادن یک مورد ساده از گیاه چهار کربنه متفاوت از نظر ایزوتوپی به محیط سه کربنه تک ایزوتوپی انتخاب شده است (وگل و وان در مرو 1977، وان در مرو و وگل 1978). این محققان نشان داده‌اند که کلاژن استخوان افراد در مناطق شمال شرق آمریکا، هیچ‌گونه تغییر ایزوتوپی متناسب با مصرف ذرت C4 را در حدود 1000 سال پس از میلاد نشان ندادند و سپس،  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن استخوان شدیداً افزایش یافت که این به سطحی می‌رسد که نشان دهنده مصرف بالای ذرت تا بیش از 60 درصد تا 1500 سال پس از میلاد است (شکل 1). بعدها، سایرین این مطالعات را در مناطق مشابه انجام داده‌اند که در آن‌ها ذرت یک محصول وارداتی بوده و نتایج مشابهی را بدست داده است (بیوریکسترا و میلنر 1991).

نبود ذرت قبل از سال 1000 سال پس از میلاد کاملاً شگفت‌انگیز است زیرا شواهد قوی وجود دارند که نشان می‌دهد الگوهای اجتماعی و معیشت در گروه‌های اولیه جنگل‌نشین قبل از این زمان متغیر بوده است. آیا امکان دارد که  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن، مصرف ذرت را قبل از سال AD 1000 کم‌تر از مقدار واقعی برآورد کرده باشد؟ و آیا نسبت‌های کربن C4 در کلاژن (50-60 درصد) در جمعیت‌های جنگل‌نشین متناسب با شواهد استخوان شناسی برای توسعه کمبودهای غذایی شدید در برخی از جمعیت‌ها بوده است (لارسون 1995)؟



کلاژن، رژیم غذایی سه کربنه، سن (سال (قبل از میلاد/پس از میلاد)

شکل 1: تغییرات در مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن اسکلت از مکان‌های باستانی و جنگل‌های اولیه و انتهایی در شمال شرق آمریکا در بیش از 5000 سال. سن بر حسب سال قبل و پس از میلاد واسنجیشده و داده‌های  $\delta^{13}\text{C}$  به صورت میانگین و انحراف معیار نشان داده شده است. داده‌ها بر گرفته از وگل و وان در مرو (1977) و وان در مرو و وگل (1978) است.



کلاژن، رژیم غذایی متوسط، درصد پروتئین مسیر به انرژی

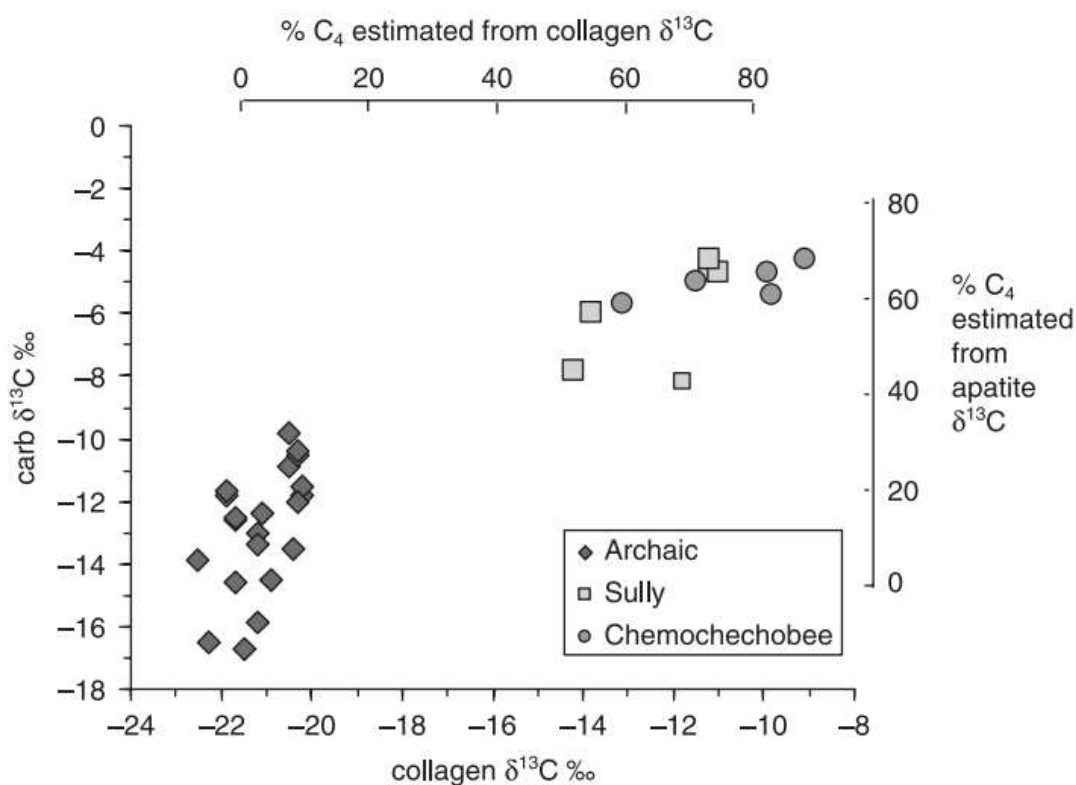
شکل 2: نتایج مطالعه تغذیه‌ای کنترل شده امبروز و نور (1993) الف: نمودار  $\delta^{13}C$  در کلاژن استخوان و اپاتیت کربنات بیان شده در برابر  $\delta^{13}C$  غذایی متوسط، انحراف معنی داری را برای بیان کلاژن/ رژیم غذایی نشان می‌دهد ب: نمودار  $\delta^{13}C$  کلاژن استخوان در برابر درصد پروتئین مسیر مختلف اجزای انرژی (لیپید و کربوهیدرات). هر نقطه بیانگر یک رژیم غذایی خاص است: A دارای 20 درصد پروتئین سه کربنه و انرژی سه کربنه است، B دارای 5 درصد پروتئین سه کربنه و انرژی سه کربنه می‌باشد، C دارای 5 درصد پروتئین سه کربنه و انرژی سه کربنه است، D دارای 70 درصد پروتئین سه کربنه و انرژی سه کربنه می‌باشد، E دارای 70 درصد پروتئین سه کربنه و انرژی سه کربنه، F و G دارای 20 درصد پروتئین سه کربنه و انرژی سه کربنه می‌باشد و H یک رژیم غذایی چهار کربنه 100 درصد فرضی است. نتایج نشان می‌دهد که مسیر پروتئین دارای اثر نامتناسبی بر روی  $\delta^{13}C$  کلاژن استخوان است.

نتایج منجر به بروز بحث‌های زیادی در این خصوص شده است که آیا پروتئین‌های غذایی می‌توانند مرتبط با کلاژن باشند یا خیر، زیرا غذاها مملو از نشاسته و لیپید باشند (نظیر ذرت)، می‌تواند در  $\delta^{13}C$  کلاژن کم‌تر از مقدار واقعی باشد. هم چنین، همه عناصر غذایی ماکرو به ایجاد کلاژن کمک می‌کنند که عرفا موسوم به مدل تخم مرغ نیمروی همزده شده<sup>1</sup> است (وان در مرو 1982). بدیهی است که چندین آمینو اسید ضروری در کلاژن به صورت درون تنی<sup>2</sup> در پستانداران قابل تولید نمی‌باشند. کرگر و سولیوان (1984) مدلی را بر اساس اصول اولیه و مشاهدات خود در خصوص تفاوت‌های بین کلاژن و  $\delta^{13}C$  کربنات اپاتیت استخوان از حیوانات در سطوح مختلف غذایی و انسان ارائه کرده است که نشان می‌دهد  $\delta^{13}C$  کلاژن منعکس کننده پروتئین غذایی است، در حالی که  $\delta^{13}C$  کربنات استخوان منعکس کننده اجزای انرژی است. داده‌های مربوط به تعداد زیادی از علفخواران وحشی، همه چیز خواران و گوشت خواران مطابق با این ایده است (لی تورپ 1989). تنها پس از دو مطالعه غذایی کنترل شده، نتایج نشان داد که پروتئین غذایی دارای کلاژن است و این که کربنات اپاتیت استخوان به طور کامل منعکس کننده کل رژیم غذایی است (شکل 2 الف، امبروز و نور 1993، تیزن و فاگر 1993). مطالعه بر روی موش صحرایی از تفاوت‌های حداکثر در ترکیب ایزوتوپی پروتئین‌ها و منابع انرژی (نشاسته و لیپید)

scrambled egg<sup>1</sup>  
in vivo<sup>2</sup>



استفاده کرده و اثبات کرد که حتی مقادیر کم پروتئین مسیر سه و چهار کربنه در  $\delta^{13}\text{C}$  تغییر می‌کند (شکل 2 ب، امبروز و نور 1993). نتایج آپاتیت نشان می‌دهد که کربنات استخوان، قویاً تحت تأثیر کاتابولیسم همه عناصر غذایی ماکرو در هر دو مطالعه قرار دارد. دو مطالعه دیگر با ترکیب با مواد یکسان نشان داد که  $\delta^{13}\text{C}$  -1 کلاسترول که ارتباط نزدیکی با مسیرهای اکسیداسیون کربن دارد، ارتباط مستقیمی با الگوی  $\delta^{13}\text{C}$  کربنات استخوان دارد (جیمو همکاران 2004) و 2- مدل سازی نتایج  $\delta^{13}\text{C}$  برای تک تک آمینو اسیدها نشان می‌دهد که در 50 درصد پروتئین های غذایی کلاژن وجود دارد (جیم و همکاران 2006). در رژیم‌های غذایی با پروتئین بالا، بیشتر آمینواسیدهای غیر ضروری بدون نیاز به جزء بندی، به کلاژن مسیر یابی می‌شوند اگرچه در رژیم‌های غذایی با پروتئین پایین، اسید آمینه‌های غیر ضروری و شرطی بایستی مجدداً از منابع غیر پروتئینی سنتز شود و از این روی با ترکیب  $\delta^{13}\text{C}$  پروتئین غذایی متفاوت است (جیم و همکاران 2006).



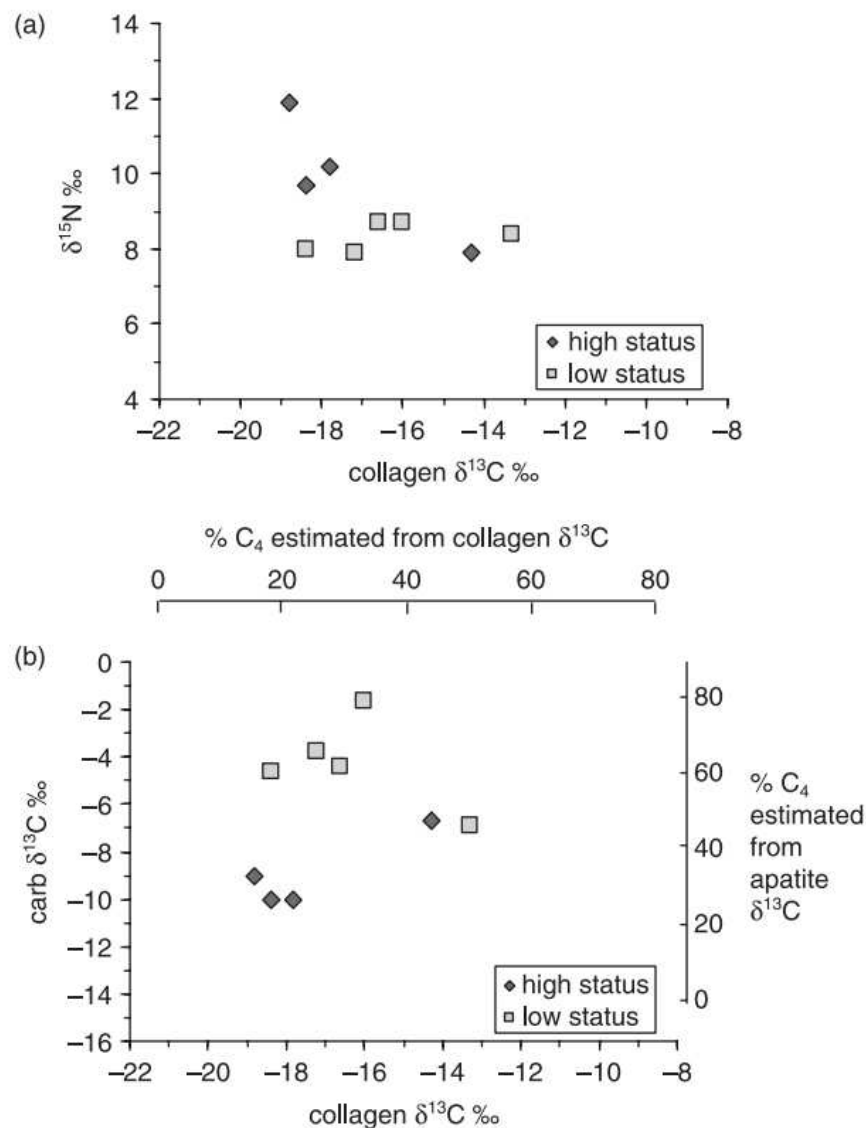
درصد کربن 4 برآورد شده از کلاژن  $\delta^{13}\text{C}$ ، درصد کربن 14 خرچنگ، درصد کربن 4 برآورد شده از کربن 13 آپاتیت، کلاژن

شکل 3: نمودار دو متغیره  $\delta^{13}\text{C}$  از کربنات استخوان و کلاژن استخوان برای اسکلت‌ها از مکان‌های باستانی کهن (عدم کشت ذرت) و از مکان‌های Sully و Chemochebebe (هر دو مکان دارای کشت ذرت). مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  کربنات استخوان مورد استفاده در این جا، نتایج حاصل از استفاده از پیش تیمار اسید استیک 0.1 مول هستند. مقیاس نشان دهنده درصد کربن C4 می‌باشد که از اجزاء برآورد شده است و بر روی محور مخالف نشان داده شده است. داده‌ها بر گرفته از کوچ و همکاران (1997) هستند.

اگرچه موش‌های صحرایی انسان نیستند و رژیم‌های غذایی آزمایشی منجر به تفاوت‌های عظیمی می‌شوند، با این حال این داده‌ها از اهمیت زیادی برای مطالعات رژیم غذایی انسان برخوردار هستند. در رابطه با ذرت، یک موضوع مهم این است که مقدار کمی از ذرت در رژیم غذایی از طریق تحلیل  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن قابل تشخیص نیستند. در طول مطالعه بر روی دیانز احتمالاً و اثرات پیش تیمار نمونه بر روی آپاتیت استخوان، کوچ و همکاران (1997)، مجموعه‌ای از داده‌های  $\delta^{13}\text{C}$  را بر روی کربنات کلاژن و استخوان از اسکلت‌ها در مناطق کهن بدست آوردند. نتایج مربوط به مواد کهن نشان می‌دهد که بیش از 20 درصد کربن گیاهان چهار کربنه برآورده شده از داده‌های آپاتیت در کلاژن غیر قابل رویت است (شکل 3). مقادیر زیاد کربن ذرت C4 در بیشتر مناطق جدید در هر دو کلاژن و آپاتیت دیده می‌شود با این حال تفاوت‌های اندک نشان می‌دهند که دو مؤلفه و اجزای اصلی منعکس کننده منابع متفاوت عناصر غذایی ماکرو و اصلی می‌باشند (شکل 3).

امبروز و همکاران (2008) قادر به آشکار سازی تفاوت‌های مربوط به طبقه اجتماعی در میان افرادی از منطقه کاهوکیا از نظر دسترسی به پروتئین‌های غذایی (امبروز و همکاران 2003) با استفاده از تحلیل ایزوتوپ آپاتیت و کلاژن بودند. تفاوت‌های مرتبط با وضعیت از موارد مربوط به گورستان‌ها، ارتفاع و پاتولوژی‌های میان دو گروه کاملاً واضح بود و این نشان می‌دهد که گروه‌های با طبقه اجتماعی پایین بیشتر بر روی مواد غذایی ضعیف به خصوص رژیم غذایی مملو از ذرت تغذیه می‌کردند. با این حال  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن، تفاوت‌های اندکی را بین دو و  $\delta^{13}\text{C}$  نشان داد، در حالی که در افراد با طبقه اجتماعی بالاتر، این مسئله زیاد مشهود نبود (شکل 4). تحلیل کربنات استخوان یک نسبت زیادی از C4 را در رژیم غذای افراد با طبقه اجتماعی پایین در مقایسه با افراد با طبقه اجتماعی پایین (شکل 4) نشان داد.

با توجه به عدم قابلیت تشخیص سطوح پایین ذرت در کلاژن استخوان و علی رغم خطرات زیاد تغییر کربنات استخوان، بیشتر محققان اخیر از اصل تحلیل هر دو اجزای بافت برای مطالعه تفاوت‌های رژیم غذایی و پاسخ به سوالاتی نظیر متراکم سازی استفاده کرده‌اند (هاریسون و کاتزبرگ 2003). استفاده از داده‌های  $\delta^{13}\text{C}$  کربنات استخوان، منجر به شناسایی اجزایی از رژیم غذایی شده است که هیچ گونه پروتئینی نداشته‌اند برای مثال نیشکر در رژیم غذایی در ساکنان جزایر ماریانا (امروز و همکاران 1997). پر واضح است که این رویکرد دوگانه برای سناریوهایی مفید است که در آن‌ها گیاهان دارای پروتئین پایین یک جزء مهم غذایی باشند زیرا آن‌ها هم در رکوردهای باستان شناسی سنتی و هم در بیشتر رویکردهای استاندارد ایزوتوپی غیر قابل شناسایی می‌باشند.

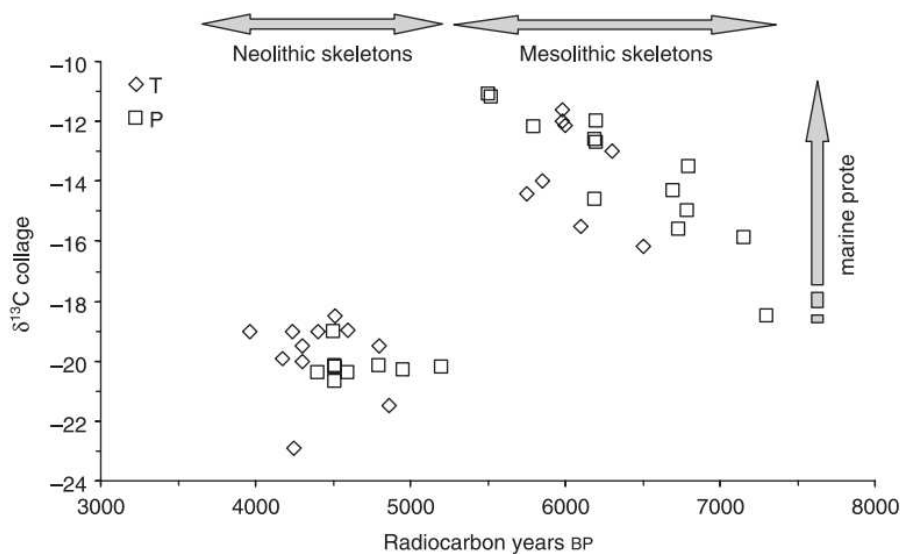


طبقه اجتماعی بالا، طبقه اجتماعی پایین، کلاژن، کربن C4 برآورد شده از کربن 13 کلاژن

شکل 4: نمودارهای دو متغیره استاندارد الف:  $\delta^{15}\text{N}$  و  $\delta^{13}\text{C}$  از کلاژن استخوان برای افراد با طبقه اجتماعی بالا و پایین از تچه ماهوکیا 72 و ب:  $\delta^{13}\text{C}$  برای نمودار کربنات استخوان در برابر  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن برای همان افراد. داده‌ها بر گرفته از امروز و همکاران (2003) می‌باشد.

### رژیم‌های غذایی دریایی

شیمی دانان رادیوکربن برای اولین بار مشاهده کرده‌اند که مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن از افراد ساحل نشین بالا بوده است. اولین مقالات مهم که از این مشاهدات استفاده کرده‌اند، تغییرات تشریحی را از  $\delta^{13}\text{C}$  بالا، رژیم‌های غذایی دریایی در مزولیت های دانمارکی (دوره میان سنگی) تا  $\delta^{13}\text{C}$  پایین، رژیم غذایی خشکی در نئولیتیک (نوسنگی) (تا بر 1981، به شکل 5 مراجعه کنید) و استفاده از ماهی سالمون و سایر غذاهای دریایی در شمال غرب امریکا را نشان دادند (کیزهولم و همکاران 1982). این تحولات اندکی بعد منجر به اثبات تمایزات  $\delta^{15}\text{N}$  بین غذاهای دریایی و خشکی شد (شوینگر و دنیرو 1084) و شامل مطالعه گروه‌های انسانی باستان شناسی و تاریخی بر اساس الگوهای معیشتی مختلف بود که از نمونه‌های مزولیتی تا بر استفاده کرد (شوینگر و همکاران 1983). تمایزات ایزوتوپی بین رژیم غذایی C3 دریایی و خشکی در کل دنیا استفاده شده است: تنها دو مطالعه در این جا بحث شده‌اند.



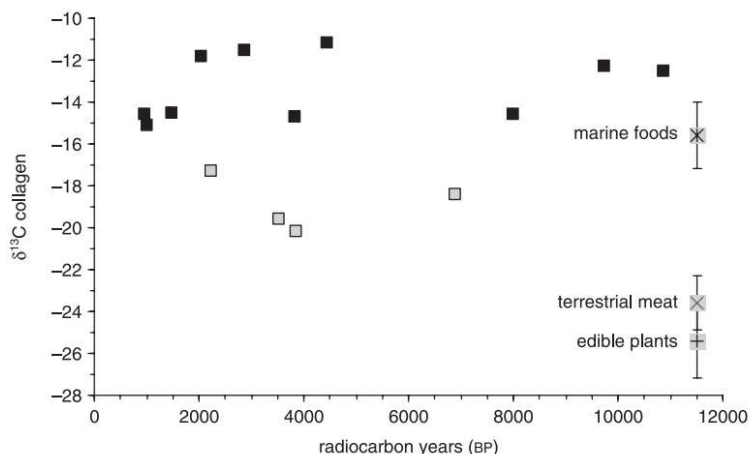
اسکلت‌های دوره نوسنگی، اسکلت‌های دوره میان سنگی، کلاژن  $\delta^{13}\text{C}$ ، سال رادیوکربن (قبل از میلاد)

شکل 5: نمودار مربوط به سن رادیوکربن (برحسب سال رادیوکربن قبل از میلاد) و مقادیر  $\delta^{13}C$  کلاژن انسانی از زمینه‌های میان سنگی و نوسنگی در دانمارک با استفاده از داده‌های ترکیب شده از اشکال 1 و شکل 2 بر اساس مقاله ریچاردز و همکاران (2003 الف) با استفاده از داده‌های مربوط به پرسون (p با علامت مربع) و تابر (T با علامت الماس). در رابطه با داده‌های تابر، سن‌های رادیوکربن از سنین کالیبره شده تا رادیوکربن کالیبره نشده برای قابلیت مقایسه، تبدیل شده‌اند (ریچاردز و همکاران 2003 الف).

سیلی از این اختلاف ایزوتوپی پایدار برای شناسایی تمایز گروهی و تست مدل‌های جا به جایی فصلی شکارچی-جمع‌آوری کننده در طی هولوسن در جنوب غربی کیپ، افریقای جنوبی (سیلی و وان در مرو 1985، 1985 و 1988) استفاده کرد. یکی از ویژگی‌های تمایز این مطالعه این بود که تفسیر رژیم غذایی انسان بر اساس بررسی دقیق ایزوتوپ شبکه‌های غذایی خشکی و دریایی به جای میانگین‌های جهانی است. تحلیل ایزوتوپ کربن کلاژن نشان داد که اسکلت‌های مدفون در ساحل، دارای کربن 13 بیشتری از اسکلت‌های مدفون در خشکی بودند (شکل 6). بسیاری از مقادیر  $\delta^{13}C$  کلاژن بسیار بالا بود (-11 تا -12) به طوری که آن‌ها مشابه با مقادیر بدست آمده از پستانداران دریایی بود و این نشان می‌دهد که رژیم غذایی انسان اغلب به طور کامل با غذاهای دریایی غالب است. تفسیر دقیق این داده‌ها بحث‌انگیز بوده است و سوالاتی در خصوص تفاوت‌های ایزوتوپیک و غذایی بین اسکلت‌های ساحلی و خشکی مطرح شده است (پارکینگتون 1991).

وقتی که ایزوتوپ‌های نیتروژن استفاده شدند، نکات مهم دیگری مطرح شدند. اول، بسیاری از مقادیر  $\delta^{15}N$  برای حیوانات شکاری کوچک محلی، به دلیل اثرات بارندگی سالانه متوسط و پایین بسیار بالا بود (سیلی و همکاران 1987) و دوم این که، اجزای شبکه غذایی دریایی با اهمیت اشکار به عنوان آیتم‌های غذایی نظیر صدف دارای  $\delta^{15}N$  پایین بود. این مطالعات نشان داده است که نقطه معیار خشکی-دریایی +10 درصد پیشنهادی توسط شونینگر و دنیرو (1984)، همیشه در همه محیط‌ها وجود ندارد. با تعمیم این مطالعه به ساحل کیپ جنوبی، که در آن اجزای C4 در اکوسیستم و شرایط مرطوب قرار دارد، ترکیبات  $\delta^{15}N$  و  $\delta^{13}C$  مفیدتر بود و نشان می‌دهد که تمایزات بین گروهی حفظ شده‌اند (سیلی 1997).

در اروپا، داده‌های توپر تأیید شده‌اند و منطقه جغرافیایی به سایر بخش‌های اسکاندیناوی، بریتانیا و بریتانی و پرتغال نسبت داده شده‌اند. الگوی تغییرات در  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن استخوان انسان از میان سنگی به نو سنگی تقریباً ثابت بوده است و در تغییر به مقادیر پایین‌تر  $\delta^{15}\text{N}$  منعکس شده است (ریچاردز و هدجس 1999 الف، شولتیک و ریچارد 2001). اگرچه در خصوص تاریخ‌های رادیوکربنی تردیدهایی وجود دارد (میلنر و همکاران 2004)، تقریباً همه داده‌های جدید با تاریخ‌های واسنجی شده با الگوی مشخص مطابق است. سن یابی مجدد سه اسکلت از قلعه درگز هولم، که نزدیک به هم و هم عصر بودند، اگرچه دو زن مربوط به دوره میان سنگی و یک مرد مربوط به دوره نوسنگی بود، امکان تمایز و تفکیک بهتر زمانی را در اختیار گذاشت (پرایس و همکاران 2007). بدیهی است که یک تغییر اقتصادی و فرهنگی از شیوه معیشتی شکارچی-جمع‌آوری کننده به رژیم غذایی خشکی با تمرکز بر غلات و حیوانات اهلی صورت گرفته است (ریچاردز و همکاران 2003 الف، ریچاردز و شولتینک 2006). مشاهده در مورد مقدار بالای رژیم غذایی دریایی در منطقه میان سنگی ساحلی کاملاً مبرهن بود است و بزرگی و کامل بودن تغییرات در دوره نوسنگی بیشتر مشاهده می‌شود. باستان شناسان استدلال کرده‌اند که مقدار استخوان و صدف ماهی در مکان‌های نوسنگی یک الگویی را نشان می‌دهد که در آن ماهی استفاده شده و استدلال شده است که بایستی دلایل دیگر توضیح داده شوند (میلنر و همکاران 2004، لیشر و همکاران 2008). از این روی استدلال ارائه شده در این مورد در رابطه با این نیست که آیا غذاهای دریایی در منطقه میان سنگی بیش از مقدار واقعی نشان داده شده‌اند و این که آیا شیوه‌ای برای نشان دادن ماهی دریایی به میزان کم‌تر از مقدار واقعی در کلاژن استخوانی نئولیتیک یا نوسنگی وجود دارد.



غذاهای دریایی، گوشت جانوران خشکی زی، گیاهان خوراکی، سال‌های رادیوکربن (قبل از میلاد)

شکل 6: مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن استخوان بدست آمده از اسکلت‌های مدفون در ساحل (مربع توپر) و در مناطق جزیره‌ای (مربعات خاکستری) جنوب غربی کیپ، افریقای جنوبی، که نمودار آن در مقایسه با سن در سال‌های رادیوکربن نشان داده شده است. میانگین‌ها و انحراف معیار نیز در سمت راست نمودار برای غذاهای زیر نشان داده شده است: غذاهای دریایی، گوشت خشکی و گیاهان خشکی زی. همه مربوط به یک منطقه هستند. داده‌ها برگرفته از سیلی و وان در مرو (1985) هستند.

هر دو مطالعات بر روی جمع‌آوری کنندگان- شکارچی‌های افریقای جنوبی و نوسنگی و میان‌سنگی اروپا، سؤالات و بحث‌های مهمی را مطرح کرده‌اند که مربوط به مفهوم ذاتی داده‌های ایزوتوپی و نیز برازش با سایر شواهد باستان‌شناسی است. آیا مقادیر بسیار زیاد غذاهای دریایی زیاد در مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن استخوان ساحل کیپ منطقی است و یا این که آیا غذای دریایی بیش از مقدار واقعی برآورد شده است یا خیر؟ امروزه به خوبی بدیهی است که  $\delta^{13}\text{C}$  منعکس‌کننده اجزای پروتئین رژیم غذایی است. این که این رابطه با توجه به نوع پروتئین متغیر است (شکل 2، به امبروز و نور 1993، تیزن و فاگر 1993) مراجعه کنید و این نشان می‌دهد که مورد دوم صادق است به خصوص اگر اجزای خشکی رژیم غذایی دارای پروتئین پایین است. در جنوب غربی کیپ، بیوم فیئینبوس دارای تعداد کمی حیوانات شکاری بزرگ است و منابع خشکی پایدار برای علف‌خواران به طور فصلی متفاوت هستند (سیلی و وان در مرو 1986). یک مطالعه محدود بر روی کربنات اپاتیت استخوان برخی از اسکلت‌های سلولی نشان داده است که برخی از اجزای تخلیه شده کربنه  $\text{C}13$  رژیم غذایی در  $\delta^{13}\text{C}$  منعکس نشده است. اثرات این تفاوت، وجود تفاوت اندک بین بافت‌ها یا مقادیر پایین  $\Delta_{\text{collagen-apatite}}$  است (لی تورپ و همکاران 1989). با این حال این اطلاعات منجر به تغییر این یافته نمی‌شوند که علف‌خواران ساحلی و خشکی از نظر ترکیب ایزوتوپ کلاژن تسهخوان متفاوت هستند.

یا شیوه‌ای برای تطبیق  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن استخوان نوسنگی اروپا با استنباط‌ها و نتایج حاصل از شواهد زمینه‌ای وجود دارد؟ مسئله مصرف صدف را می‌توان به آسانی توضیح داد: بقایای صدف در رکوردهای باستان‌شناسی

بیش از مقدار واقعی نشان داده می‌شود زیرا آن‌ها تولید حجم زیادی از ضایعات و بقایا می‌کنند، در حالی که به دلیل موقعیت پایین خود در شبکه غذایی دارای مقدار نسبتاً کمی از  $\delta^{15}\text{N}$  و  $\delta^{13}\text{C}$  در مقایسه با پستانداران دریایی و ماهی وجود دارد. مسئله دیگر این است که بقایای استخوان ماهی در مقدار کم در مکان‌های نوسنگی، در مقادیر ایزوتوپ کلاژن استخوان انسان منعکس نمی‌شود. با این حال، در صورتی که برخی از این بقایا مربوط به گونه‌های آب شیرین نزدیک مار ماهی باشد، آن‌ها ممکن است میزان  $\text{C13}$  کمی را در غذاها نشان دهند (دافور و همکاران 1999). پیشنهاد شده است که ترکیبی از ورودی‌های دریایی و ماهیان آب شیرین موجب خنثی سازی یک دیگر می‌شوند (فیشر و همکاران 2008). یکی از مسائل مربوط به این روش این است که ماهیان آب شیرین دارای مقدار بالایی از  $\delta^{15}\text{N}$  می‌باشد که مطابق با مقادیر کلاژن استخوان‌های انسان دوره نوسنگی نیست. با توجه به پیوستگی الگوی مزولیتیک به نئولیتیک، و خوشه بندی  $\delta^{15}\text{N}$  و  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن استخوان انسان نوسنگی، بدیهی است که حتی اگر مقادیر کم صدف و ماهی (خواه آب شیرین و خواه دریا) مصرف شده باشند، تغییرات رژیم غذایی مشاهده شده در مقادیر ایزوتوپ کلاژن اسکلتی، تغییرات فرهنگی و اقتصادی مجزایی را تجربه می‌کنند. از این روی در جزایر بریتانیا، غذای دریایی به صورت منظم جزو رژیم غذایی انسان در زمان‌های قرون وسطی بوده است (مادلدر و ریچاردز 2005).

### رژیم‌های غذایی در زمان زمین شناسی<sup>۳</sup>

تلاش‌های زیادی برای تعمیم و استفاده از تحلیل‌های ایزوتوپی به دوره‌ها زمانی دور برای پاسخ به سؤالات تغذیه‌ای در طی دوره‌های اولیه تاریخچه تکاملی انسان صورت گرفته است. همان طور در بخش‌های فوق گفته شد، بیشتر تحقیقات ایزوتوپی موجود بر هر دو  $\delta^{15}\text{N}$  و  $\delta^{13}\text{C}$  متمرکز بوده است. برای این که بیشتر به زمان تاریخی برگردیم، محققان روش‌های مبتنی بر کلاژن و یا روش‌های توسعه‌ای مبتنی بر فاز معدنی را ارائه کرده‌اند. پیشرفت‌های اخیر در استخراج کلاژن با کیفیت بالا از مواد قدیمی نشان داده است که کلاژن تحت شرایط مناسب تا 200000 سال باقی می‌ماند (امبروز 1998، ریچاردز و هدجس 1999 الف، جونز و همکاران 2001). از این روی امکان تحلیل کلاژن استخوان هومینین‌های اواخر پلی استوسن در اروپا به وجود آمده است



که در آن دما در بیشتر این اوقات پایین بوده است. استفاده از ایزوتوپ‌ها در زمان‌های طولانی‌تر نیازمند توسعه و تست روش‌های مبتنی بر آپاتیت است. که از مینای دندان به عنوان یک ماده قابل اطمینان استفاده کرده‌اند که قادر به حفظ ترکیبات ایزوتوپیک بیوژنیک است (لی تورپ و وان در مرو 1987، الیف و همکاران 1994، وانگ و کرلینگ 1004، لی تورپ 2002). این تحولات در کنار پیشرفت در طیف سنجی جرمی منجر به کاهش نیاز به اندازه نمونه و افزایش بازدهی شده و مسیر را برای استفاده از روش‌های ایزوتوپی به دندان‌های فسیلی استراپولیت و انسان اولیه هموار کرده است. یک مزیت این است که  $\delta^{13}\text{C}$  آپاتیت دندان نشان دهنده ترکیب کل رژیم غذایی است.

### رژیم‌های غذایی نئاندرتال اواخر پلی استوسن

مطالعات ایزوتوپ پایدار رژیم‌های غذایی نئاندرتال با تحلیل افراد نئاندرتال 40000 ساله و پوشش گیاهی مربوط به ماریلاک فرانسه (باکرن و همکاران 1991) شروع شد.

اگرچه محققان در این مطالعه برای کنترل کیفیت وابسته به پروفیل‌های آمینو اسیدی وابسته می‌باشند که امروزه ناکافی قلمداد می‌شود و اطلاعات زیادی را نمی‌توان از یک فرد بدست آورد، تحلیل‌های بعدی در این مکان (یفیزت و همکاران 1995) نشان داده است که داده‌های اصلی، قوی‌تر بوده‌اند. اولین مطالعه ماریلاک و تحلیل مواد پوشش گیاهی قدیمی از ویندیجای کرواسی و سایر مکان‌ها امکان تحلیل نمونه‌های نئاندرتال را در ماریلاک اسکلادینا (یفیزت و همکاران 1995)، اویر و بک آل روچ در بلژیک داد (ریچاردز و همکاران 2000).

در محیط اروپایی C3 تک ایزوتوپی،  $\delta^{13}\text{C}$  کلاژن استخوان اطلاعات کمی را در خصوص رژیم غذایی نئاندرتال ارائه می‌کند و شواهدی در خصوص اولویت‌های دفاعی، و تقویت محیط وجود ندارد (باکرنز و همکاران 2000).

تاکید اصلی بر ترکیب  $\delta^{15}\text{N}$  بوده است که برای حل سؤال سطح غذایی و ترکیب گوشت استفاده شده است. با توجه به فراوانی این آسیب‌ها، شواهد مربوط به شکار از نزدیک و فراوانی دوره‌های تنش (در شکل هیپولایزس دندان) در میان نئاندرتال‌ها (تکینوس 1995)، موفقیت آنها هنوز زیر سؤال بوده است. یک فرضیه این بود که نئاندرتال‌ها دارای مفوقیت شکار و سطح غذایی پایینی نسبت به انسان‌های مدرن دیرینه سنگی بالایی بودند (امبروز 1998).

همه داده‌های ایزوتوپی در منابع و مطالعات نشان داده‌اند که نئاندرتال‌ها دارای  $\delta^{15}\text{N}$  در مقایسه با علفخواران معاصر نظیر اسب، گوزن و گاو کوهان دار بوده و مشابه با گرگ گوشتخوار ((*Canis lupus*), کفتار (*Crocuta spelaea*) و شیرها (*Panthera spelaea*) است (باکرنز و همکاران 1991، 2001، 2005، فیتز و همکاران 1995، ریچاردز و همکاران 2000). وقتی که داده‌های مربوط به همه سایت‌های اروپای مرکزی و غربی ترکیب شوند  $\delta^{15}\text{N}$  نئاندرتال به طور معنی داری بیش از علفخواران و نیز اندگی بالاتر از گوشت خواران است (شگل 7) تفاوت اصلی بین  $\delta^{15}\text{N}$  علفخواران و نئاندرتال‌ها حدود +5 درصد بوده و گاهی بالا است. ریچاردز و همکاران (2000، 2001) و بوکرنز و همکاران (2005) استدلال کرده‌اند که نئاندرتال‌ها، گوشت خواران سطح بالای هرم می‌باشند، در حالی که مقدار کمی از پروتئین‌های غذایی از گیاهان بوده و این که آن‌ها وابسته به علفخواران با  $\delta^{15}\text{N}$  نسبتاً بالا می‌باشند نظیر ماموت‌ها (*Mammuthus primigenius*)، یا حتی مصرف خرس همه چیز خوار (*Ursus spp*) (ریچاردز و همکاران 2000 ف بوکرنز و همکاران 2001). بوکرنز و همکاران (2005) از مدل تقسیم بندی منابع توسعه یافته در مطالعات اکوسیستم مدرن برای محاسبه احتمال آماری این که یک جزء اصلی رژیم غذایی نئاندرتال، ماموت بوده است، استفاده کرده است. با این حال، محدودیت‌های معنی داری در کاربرد این مدل آماری در اکوسیستم‌های باستانی وجود دارد که در آن‌ها مجهولات زیادی وجود دارند.

اگرچه، مقایسه مستقیم داده‌های ایزوتوپی پایدار بین نئاندرتال‌ها و انسان‌های مدرن دیرینه سنگی بالایی (انسان‌های UP) از زمانها و مکان‌های مشابه امکان پذیر نمی‌باشد، امکان مقایسه مقادیر میانگین وجود دارد. ریچاردز و همکاران (2001) استدلال کرده‌اند که چون  $\delta^{15}\text{N}$  برای مجموعه‌ای از انسان‌های مدرن دیرینه سنگی با قدمت 30000 سال پیش بالاتر از مقدار مربوط به داده‌های نئاندرتال بوده است، علاوه بر وابستگی به غذاهای جانوری، آن‌ها ممکن است در رژیم غذایی خود از ماهی‌های آب شیرین و پرندگان نیز استفاده کرده باشند. در صورتی که این مسئله صادق باشد، می‌توان گفت که این یک منبع تعلیف و غذایی با طیف گسترده و متنوع اولیه بوده است. با این حال، داده‌های انسان پارینه سنگی نشان می‌دهد که تفاوت‌ها و اختلافات  $\delta^{15}\text{N}$  از نظر آماری معنی دار نمی‌باشند (اسپون هیمر و لی تورچ 2007). توجه کمی به تفاوت‌های کوچک در  $\delta^{13}\text{C}$

بین نئاندرتال ها و انسان‌های پارینه سنگی شده است (شکل 7). این منعکس کننده تفاوت‌ها در محیط‌های مطلوب یا شکار و یا شرایط اقلیمی است.

دلیل اصلی به کار گیری تحلیل‌های ایزوتوپ پایدار به رژیم غذایی نئاندرتال ها و انسان پارینه سنگی مربوط سطح شبکه غذایی است، با این حال، این روش در زمانی استفاده می‌شود که مسائل تفسیری وجود داشته باشد.

تفسیر ارائه شده تا کنون برای غنی سازی زیاد  $^{15}\text{N}$  بین هومینین ها و علفخواران مربوطه مبتنی بر این

موضوع هستند که این موجودات معمولاً از پرنده‌های غنی از  $^{15}\text{N}$  استفاده می‌کردند. این تفسیر غنی سازی غذایی استاندارد+3 درصد را فرض می‌کند که به گفته هدچس و رینارد (2007)، هنوز مشخص نیست که این

یک معیار صحیح برای انسان‌هاست. هم چنین این مسئله مشخص نیست که رابطه بین  $^{15}\text{N}$  کلاژن و رژیم

غذایی خطی است (هدجج و رینارد 2007)، به این معنی که نمی‌توان به آسانی درجات گوشتخواری، یا به طور

مناسب‌تر رژیم غذایی با پروتین بالا را تعیین کرد. مطالعات خوراک دهی و تغذیه کنترل شده نشان می‌دهد که

مقدار و کیفیت پروتین در رژیم غذایی بر تفاوت  $^{15}\text{N}$  در رژیم غذایی- بافت تاثیر دارند و این تفاوت در

علفخواری که بیش از مقدار مورد نیاز پروتین مصرف کرده‌اند مشهود است (اسپنهیمر و همکاران 2003). از این

روی آستانه‌ها نیز ممکن است فعال باشند. داده‌های ایزوتوپی برای انسان‌های پارینه سنگی و نئاندرتال های عصر

یخچالی در اروپا، امکان تفسیر داده‌های  $^{15}\text{N}$  را در اکوسیستم های دیرین در اختیار می‌گذارد که برای آن‌ها

هیچ گونه اکوسیستم معادلی وجود ندارد. علی رغم این موارد، بدیهی است که هر دوی نئاندرتال ها و انسان‌های

پارینه سنگی، مقادیر زیادی از غذاهای جانوری مملو از پروتین مصرف کرده‌اند.

### رژیم‌های غذایی هومینین اولیه

مطالعات ایزوتوپی هومینین های اولیه عمدتاً بر مبنای تمایزات  $\delta^{13}\text{C}$  بین گیاهان سه و چهار کربنه می‌باشند

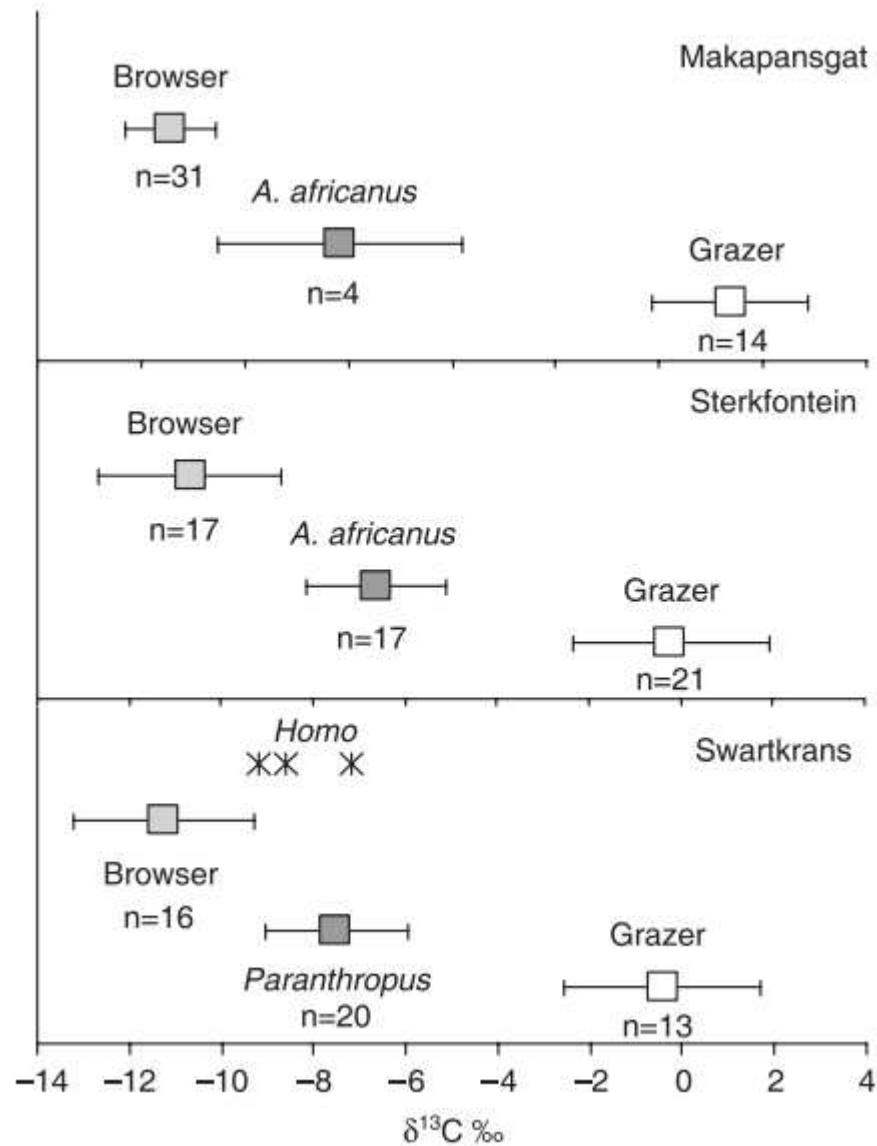
زیرا در محیط‌های ساوانای افریقایی که آن‌ها زندگی می‌کرده‌اند، همه منابع غذایی کربنی از درختان، درختچه‌ها،

بوته‌ها و علفی‌ها از نظر کربن 13 در مقایسه با منابع کربن حاصل از جگن‌ها و گراس های گرمسیری، متمایز

بوده‌اند. تحلیل  $\delta^{13}\text{C}$  فرصت‌هایی را برای تست فرضیات در مورد عادات غذایی اولیه آن‌ها ارائه می‌کند. در

میان هومینین های افریقایی جنوبی، که تحقیقات زیادی روی آن‌ها صورت گرفته است، گفته می‌شود که

*Australopithecus africanus* عمدتاً میوه‌ها و برگ‌ها و برخی از غذاهای حیوانی را مصرف می‌کنند، در حالی که *Paranthropus robustus* بیشتر بر روی غذاهای گیاهی کوچک و سخت متمرکز بوده‌اند و این موجب شده است تا دندان مینای اکلوزالی آن‌ها پوسیده شود (لی تورپ و اسپنهمر 2006).



شکل 8: توزیع  $\delta^{13}C$  که به صورت انحراف معیار و میانگین در دندان تغذیه کننده‌های سه کربنه (جمع اوری کننده‌های معمول)، تغذیه کنندگان چهار کربنه (چراکننده های معمولی)، و هومینین ها از مکان ماکاپانسانگات، استرکفونتین ممبر 4 (c. 2.4–2.6 Ma) و اسواتراکانز (1.7 میلیون سال پیش) نشان داده شده است. این شکل بر گرفته از لی و تارپ و همکاران 2003 است.

پیش بینی ما این است که *A. africanus* و *P. robustus* بایستی دارای مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  غیر قابل تمایز از چراکننده ها و میوه خوارهای گیاهان سه کربنه باشد. تحلیل بیش از 40 نمونه هیومینین از مناطق ماکاپانسانگات، استرکفونتین، کروماداری و اسوارتکرانز، از دوره حدود 1.5 تا 3 میلیون سال، نشان می‌دهد که  $\delta^{13}\text{C}$  در هر دوی آسترالوپیت ها و تعداد کمی از افراد هومو، بسیار متفاوت از مصرف کننده‌های سه کربنه نظیر جست و جو کننده‌ها (شکل 8) می‌باشد. به علاوه، مقادیر میانگین *A. africanus* و *P. robustus* علی‌رغم گذشت زمان و تغییرات در شرایط محیطی، غیر قابل تمایز است (لی تورپ و همکاران 2003). در صورتی که میانگین  $\delta^{13}\text{C}$  در غلفخواران مصرف کننده گیاهان سه و چهار کربنه را در نظر بگیریم، می‌توان برآورد که به طور متوسط، هر دوی *Australopithecus* و *Paranthropus* بیش از 30 درصد کربن خود را از منابع گیاهان چهار کربنه بدست می‌آورند، در حالی که برآورد مربوط به انسان اولیه هومو، اندکی کم‌تر است (اگرچه دارای عدم قطعیت با توجه به این که  $n=3$  است). همه تاکساها مقادیر قابل توجهی از منابع C4 را مصرف می‌کردند که شامل گراس ها، جگن‌ها و حیوانات مصرف کننده این گیاهان بوده است.

این نتیجه غیر منتظره بود زیرا میمون‌های انسان نما حداقل منابع گیاهان C4 را مصرف می‌کنند حتی زمانی که در ایستگاه‌های نسبتاً باز زندگی کنند و این نشان دهنده وجود تفاوت‌های مربوط به آشپان‌های اکولوژیک بین آسترالوپیت ها و میمون‌های انسان نما است. تفاوت بین هومینین ها و سایر موجودات را نمی‌توان به دیاژنز نسبت داد زیرا شواهدی وجود ندارد که نشان دهند مقدار  $\delta^{13}\text{C}$  در چرا کننده تغییر یافته باشد و دیاژنز بر همه موجودات اثر دارد. تغییرات C4 در سرتاسر محیط هانشان دهنده تغییرات زیستگاه‌های پلی استوسن در مکان‌های اولیه است (2.4 تا 3 میلیون سال پیش است) (لی تورپ و همکاران 2003، به شکل 8 مراجعه کنید). در درون این سایت و در جایی که در آن نمونه‌های کافی وجود دارد، داده‌های  $\delta^{13}\text{C}$  آسترالوپیت متغیرتر از بیشتر تاکسا های مدرن و فسیلی تحلیل شده در افریقای جنوبی تا به امروز می‌باشند که نشان می‌دهد آن‌ها پرمات های فرصت طلب با سازگاری زیاد به زیستگاه‌ها بوده‌اند.

داده‌های  $\delta^{13}\text{C}$  به تنهایی امکان نتایج گیری دقیق را در مورد نسبت‌های کربن ناشی از منابع C3-C4 می‌دهند با این حال اطلاعاتی در خصوص منابع واقعی ارائه نمی‌کنند. لی تورپ و همکاران (2000) استدلال کرده‌اند که

گراس های ساوانا غذای رایج هومیین ها نبوده است زیرا آن ها رژیم غذایی ضعیفی می باشند، اندازه آن ها کوچک است و این که صرف حشرات و مهره داران مصرف کننده گیاهان چهار کربنه، یک دلیل موجه تر است. بررسی دقیق تر احتمالات مختلف نظیر جگن های خوراکی و مملوء از نشاسته و موربانه ها حاکی از آن است که هیچ یک از این ها، دلیل قانع کننده ای برای نقش مهم C4 نمی باشند. یک منبع اطلاعات دیگر را می توان در  $\delta^{18}\text{C}$  مینای دندان یافت. همان طور که در بالا گفته شد،  $\delta^{18}\text{C}$  از کربنات و فسفات اپاتیت تحت تأثیر اکولوژی رژیم غذایی قرار دارد از جمله رفتار غذایی. در دو اکوسیستم مدرن افریقای جنوبی، گرازهای وحشی، برخی پریمات ها و به خصوص همه گوشت و حشره خواران، دارای  $\delta^{18}\text{C}$  نسبتاً کم تری در مقایسه با علفخواران بوده اند. دلیل این مسئله مشخص نیست، در رابطه با گرازهای وحشی، می توان گفت که این گرازها برای زندگی به اندام های ریشه ای و ذخیره گیاهان متکی هستند و در رابطه با گوشت خواران، نسبت بالای لیپید و پروتین غذایی لازم بوده و آن ها به شدت وابسته به آب اشامیدنی هستند. داده های  $\delta^{18}\text{C}$  استرالوپیت از ماکاپانزگات و اسوارتکرانز با داده های گوشت خواران هم پوشانی دارد (لی تورپ و همکاران 2003). اگرچه تفسیر مقادیر پایین  $\delta^{18}\text{C}$  برای هومیین ها هنوز مبهم بوده و این موضوع نیازمند مطالعه بیشتری است.

علی رغم این عدم قطعیت ها، داده های ایزوتوپی نشان داده اند که استرالوپیت ها، گستره و طیف رژیم غذایی خود را با مصرف منابع C4 افزایش می دهند. یک تفاوت اساسی بین هومیین ها و میمون ه می تواند این باشد که میمون ها در مواجهه با مناطق باز، از غذاهایی که در محیط های جنگلی فراوان هستند استفاده می کنند اگرچه انسان های اولیه نیز شروع به استفاده از منابع جدید C4 کردند.

#### مقصد بعدی کجاست؟

پر واضح است که مطالعات بسیار زیادی بر روی بازسازی رژیم غذایی ایزوتوپی، از اواسط 1970 انجام شده اند. بسیاری از تحولات و پیشرفت های جدید نظیر نمونه گیری بین فردی با وضوح بالا و تاریخچه حیات در بحث های فوق کنجانده نشده اند زیرا آن ها هنوز در حال توسعه می باشند. آن ها در فهرستی که من در آینده آن را ارائه خواهم کرد واقع شده اند.

توزیعات ایزوتوپ در اکوسیستم های مدرن و دیرین

یک زمینه‌ای که نیازمند توجه گسترده‌تر و بیشتری است، بهبود درک و دانش ما از توزیع طبیعی ایزوتوپ‌های پایدار در انواع مختلف اکوسیستم‌ها و تحت شرایط مختلف است. در راستای درک گذشته ما بایستی از اصل یکسان‌گرایی استفاده کنیم، با این حال اطلاعات ما عمدتاً به صورت میدانی و در مقیاس جهانی جمع‌آوری می‌شود و کم‌تر بر اساس مقیاس منطقه‌ای جمع‌آوری می‌شود. یکی از ویژگی‌های برجسته مطالعه سیلی و وان در مرو بر روی شکارچیان - جمع‌آوری کنندگان ساحل نشین هولوسن، پوشش کامل شرایط محیطی و ایزوتوپی در کل منطقه هم در گذشته و هم در حال است (سیلی و همکاران 1987، سیلی و وان در مرو 1988). ما نیازمند مطالعات منطقه‌ای بیشتری هستیم. مسلماً، دست‌یابی به این هدف بسیار سخت است زیرا بسیاری از مناطق تحت فعالیت کشاورزی انسان در یک هزاره کاملاً تغییر کرده است. به علاوه در بسیاری از مناطق باستانی عصر کشاورزی، مواد جانواری اغلب محدود به تعداد کمی از حیوانات خانگی بوده است و این موجب کاهش توانایی ما برای بررسی اجزای اکوسیستم گسترده می‌شود. با این حال، پناهگاه‌هایی حتی در مناطق به شدت تخریب شده دنیا وجود دارد.

ما در مطالعه دیرین اکوسیستم‌ها، به طور مکرر با شرایط متفاوت از امروز مواجه می‌شویم و از این روی بایستی در یافتن اکوسیستم‌های مدرن که قابل مقایسه و مشابه هستند خلاقانه عمل کنیم. یک مثال خوب، آخرین دوره یخچالی در اوراسیا است. الگوی  $\delta^{15}\text{N}$  و  $\delta^{13}\text{C}$  در بسیاری از جانوران تحلیل شده در نئاندرتال و مکان‌های دیرینه‌شناسی در جنوب غرب اروپا نشان می‌دهد که چرخه‌های کربن و نیتروژن تفاوت معنی‌داری تحت شرایط یخچالی دارند (باکرنز و همکاران 2005، استیون و همکاران 2008)، با این حال برای درک این الگوها ما بایستی حاشیه توندرای سیبری را نیز بررسی کنیم.

### توسعه جعبه ابزار ایزوتوپ

بیشتر این مقاله مروری به بررسی پیشرفت‌های مربوط به  $\delta^{15}\text{N}$  و  $\delta^{13}\text{C}$  به ترتیب از کلاژن و اپاتیت مینای دندان پرداخته است با این حال بخش‌های اندکی در خصوص هیدروژن، اکسیژن و گوگرد نشان داده‌اند که توسعه تحقیقات مربوط به این سیستم‌های ایزوتوپی برای اهداف دیرین تغذیه‌شناسی منطقی است. بر اساس اولین اصول و مطالعات موجود، استدلال شده است که  $\delta^{34}\text{S}$  را نمی‌توان به عنوان یک شاخص دیرین تغذیه

شناسی استفاده کرد زیرا یک معرف اصلی، مقدار معین برای موجودات دریازی با در نظر گرفتن این که سایر موارد متغیر هستند، می‌باشد.

اطلاعات مربوط به الگوی غذایی در  $\delta D$  و  $\delta^{18}O$  که به طور مستقل در شرایط متفاوت بدست آمده‌اند، مسیرهای جدیدی را برای تحقیق ارائه می‌کند. تغییرات بین گونه‌ای در  $\delta^{18}O$  در کربنات مینای دندان و فسفات، به طور غیر منتظره در راستای دست یابی به اهداف دیگر ظهور کرده‌اند. برخی از مطالعات فرصت طلبانه قیاسی بر روی مجموعه‌ای از جانوران افریقا نشان می‌دهد که حشره خواری و گوشت خواری را می‌توان بر اساس مقادیر پایین  $\delta^{18}O$  مجزا برای حیواناتی نظیر کفتار و روباه گوش خفاشی (لی تورپ و اسپانهیمر 2005) تشخیص داد، با این حال هم پوشانی و تنوع زیادی وجود دارد. به علاوه برای تعیین این که آیا این الگو به طور گسترده صادق است یا خیر، توزیع  $\delta^{18}O$  در میان مجموعه‌ای از جانوران از محیط‌های سرد و متعده تست شده است. این  $\delta D$  در کلاژن اطلاعات مربوط به سطح تروفیک را در اختیار می‌گذارد و اطلاعات بدست آمده بر اساس مجموعه‌ای از حیوانات اهلی هستند (رینارد و هدجز 2008). این که  $\delta D$  دارای اطلاعات سطح غذایی است و این که الگوها در زیست مولکول‌های باستان شناسی باقی مانده‌اند، از اهمیت زیادی برخوردار هستند. چون رفتار ایزوتوپ‌های هیدروژن و اکسیژن معمولاً با هم ارتباط دارند، تلاش‌های بیشتری برای کنار هم قرار دادن این دو در کنار یک دیگر بر اساس مولکول‌های زیستی لازم است. تا کنون، تحقیقات به طور کاملاً جدا انجام شده‌اند زیرا  $\delta^{18}O$  در مواد معدنی و  $\delta D$  در فازهای آلی مطالعه شده‌اند.

#### اطلاعات بیشتر از واحدهای بیومولکولی کوچک‌تر

بحث مربوط به مسیریابی اجزای غذایی منجر به نتایجی در خصوص برآیند تحلیل‌های ایزوتوپی ترکیبات خاص امینو اسیدها و کلاسترول از مطالعه تغذیه کنترل شده گردیده است (جیم و همکاران 2004، 2006). این دو مثال نشان می‌دهند که اطلاعات دقیق در خصوص مسیرهای بیوشمیایی را می‌توان از رویکردهای مربوط به ترکیب به جای رویکردهای نمونه گیری استخراج کرد. دیگر مثال بارز، توسعه و کاربرد شاخص

—  $\delta^{13}C$  glycine-phenylalanine  
برای تشخیص حضور غذاهای دریایی در رژیم غذایی است (کور 2005). مزیت

این روش این است که مستقل از حضور گیاهان چهار کربنه در محیط است، و یک عامل اصلی در تمایز رژیم‌های



غذایی دریایی از رژیم‌های خشک با استفاده از روش کلاژن در مناطق خاص می‌باشد. به طور کلی، رویکردهای مرتبط با ترکیب، که در زمینه مطالعات غذایی کنترلی شده به طور مستقیم انجام شده، مناسب‌ترین مسیر برای ارائه اطلاعات ایزوتوپیکی و بیوشیمیایی مورد نیاز برای حل مسائل نامطلوب کمی سازی و سنجش عناصر تغذیه‌ای می‌باشند (میزان غذای دریایی، میزان ذرت). مسیرهای مطلوب دیگر شامل ابزارهای تشخیص آیت‌های غذایی‌ای که قبلاً قابل تشخیص نبوده‌اند نظیر ماهیان آب شیرین و حتی غذاهای گیاهی. این یک گام بسیار مهم است.

### پیشرفت‌ها در زمینه نمونه‌گیری و تحلیل

پیشرفت‌های اخیر در زمینه طیف‌سنجی جرمی و به خصوص در تحویل خودکار نمونه به طیف‌سنج جرمی برای تحلیل ایزوتوپی به این معنی است که نمونه‌های بسیار کوچک و زیاد را به سرعت می‌توان تحلیل کرد. این پیشرفت‌ها فرصت‌های بسیار زیادی را در اختیار گذاشته‌اند. تحلیل‌های سریالی ترانسکت‌های عمودی با وضوح بالا در امتداد تاج دندان امری جدید نبوده است، بالاسی راهنمای روش نمونه‌گیری با وضوح بالا در جانوران اهلی و وحشی را برای تعیین الگوهای فصلی و بررسی مدیریت حیوانات اهلی ارائه کرده است (بالاسی 2003). سیستم‌های نمونه‌گیری کندوسوز لیزری متصل به طیف‌سنج‌های جرمی ایزوتوپی‌های سبک پایدار، اگرچه هنوز به طور گسترده قابل دسترس نیستند، با این حال می‌توانند تا حد زیادی نیاز به کاهش اندازه نمونه را ضمن کسب اطلاعات بین‌دندانی را مرتفع کنند (شارپ و کرلینک 1996). آسیب کندوسوز یا سایش لیزری حداقل است و این عاملی است که این روش را برای موزه‌داران جذاب کرده و موجب تسهیل دسترسی به طیف‌گسترده‌ای از نمونه‌های فسیلی می‌شود. البته محدودیت‌های بسیاری نیز وجود دارد. برای مثال، گاز آزاد شده از طریق کند و سوز لیزری مینای دندان حاوی مقداری اکسیژن از منابع خارجی است با این حال ترکیبی از فسفات (90 درصد) و کربنات (10 درصد) است. چون  $\delta^{18}\text{O}$  از کربنات و فسفات در دندان‌ها یا استخوان‌ها دارای تفاوت 9 درصدی می‌اشند، ترکیب گازی منعکس‌کننده هر دو بوده و مستقیماً با داده‌های موجود قابل مقایسه نیست. استفاده از این روش در دندان‌های هومین برای اولین بار حاکی از تغییرات بین سالانه در مقدار منابع چهار کربنه در رژیم غذایی نمونه‌های پارانتروپوس افریقای جنوبی بود (اسپنهمر و همکاران 2006). ترانسکت‌های تاج دندان با وضوح بالا و یا ریشه‌های دندان برای تحلیل ایزوتوپی، از پتانسیل بالایی برای پاسخ به سؤالات مربوط به تاریخچه حیات افراد در گذشته برخوردار است. چندین مطالعه با استفاده از روش‌های نمونه

گیری دستی به بررسی سنی پرداخته‌اند که در این سن رویدادهای بیولوژیکی مهم به خصوص مدت زمان شیرخواری و سن از شیر گرفتگی رخ داده‌اند. (رایت و شوراتز 1998، فولر و همکاران 2003). تحلیل‌های خودکار و با اندازه نمونه کوچک‌تر و سریع، امروزه ابزار با وضوح بالا را ارائه کرده ضمن این که آسیب را به حداقل می‌رساند. با این حال محدودیت‌هایی در مقدار اطلاعات استخراج شده به دلیل الگوی ذاتی تشکیل تاج دندان وجود دارد. بلوغ به مدت چندین ماه پس از ایجاد مینای اصلی اتفاق افتاده و به این ترتیب سیگنال ورودی ایزوتوپ کاهش می‌یابد (بالاسی 2003، پاسی و همکاران 2005 الف). از این روی وضوح تحلیلی و نمونه‌گیری زیاد لزوماً به وضوح مشابه اطلاعات ترجمه نمی‌شود.

تحلیل ایزوتوپ سبک یکی از معدود روش‌هایی است که قادر به شناسایی رویدادهای زندگی و حیات افراد و نیز شناسایی تفاوت‌های تاریخچه حیات و رژیم غذایی بین افراد علاوه بر شناسایی فرصت‌های مقایسات بین گونه‌ای و بین گروهی بزرگ مقیاس است. از این روی، این رویکرد در مقیاس‌های مختلف می‌تواند استفاده شود. تا کنون، مقیاس‌های گسترده‌تر بسیار مطلوب بوده‌اند زیرا امکان تأیید مقایسات و تغییرات آماری را می‌دهد. با پیشرفت‌های جدید در زمینه طیف سنج جرمی برای انجام تحلیل‌های نمونه‌ای کوچک مقیاس، آسیب حداقل و بازدهی نمونه بالا، پیشرفت در تحلیل آمینو اسیدهای خاص و ترکیبات، دهه آینده شاهد تحقق پتانسیل کامل رویکردهای ایزوتوپ سبک پایدار خواهد بود.

این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

لیست مقالات ترجمه شده ✓

لیست مقالات ترجمه شده رایگان ✓

لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI ✓

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی